

Einfluss von Komplexbildnern auf die Aufnahme von Zink durch Sonnenblumen

Master Thesis

Author(s):

Fässler, Erika

Publication date:

2005

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005121429>

Rights / license:

In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

Einfluss von Komplexbildnern auf die Aufnahme von Zink durch Sonnenblumen



Erika Fässler, UMNW, ETH Zürich

Diplomarbeit am Institut für Terrestrische Ökologie (ITÖ), ETH Zürich und
der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft (WSL)

Leitung: Prof. Dr. Rainer Schulin
Betreuung: Dr. Bernd Nowack
Dr. Susan Tandy
Dr. Madeleine Goerg-Günthardt

Sommersemester 2005

Vorwort

Die Möglichkeit, schwermetallbelastete Böden mit Pflanzen zu sanieren, fasziniert mich schon seit längerem. Meines Erachtens ist die Phytoremediation eine sehr sinnvolle Methode. Dementsprechend habe ich mich sehr über den Vorschlag von Rainer Schulin und Bernd Nowack gefreut, eine Diplomarbeit zu diesem Thema schreiben zu dürfen. Vielen Dank! An dieser Stelle möchte ich mich bei Bernd Nowack dafür bedanken, dass er mir viel Freiraum liess und sich trotzdem immer Zeit nahm, wenn ich irgendwo nicht weiter kam. Danke auch für die guten Tipps bei der Datenauswertung. Susan Tandy hat mir bei der Planung und Durchführung der Pflanzenversuche geholfen und mir die nötigen Handgriffe im Labor gezeigt. Sie war stets für mich da, wenn irgendwas schief ging oder ich nicht weiter wusste. Ich bin ihr sehr dankbar, dass sie trotz des Abschlusses ihrer Dissertation und der Stellensuche immer Zeit für mich hatte. Madeleine Goerg-Günthardt hat es mir ermöglicht, an der WSL die Versuche am Mikroskop durchzuführen. Besten Dank! Ohne die Hilfe von Petra Bernasconi hätte ich die Versuche am Mikroskop gar nicht durchführen können. Sie hat alle Präparate erstellt, mir die wichtigsten Informationen über die Mikroskopie vermittelt und die Fotos gemacht. Ich danke ihr und auch Pierre Vollenweider für die Hilfe und die Interpretation der Daten. Im Weiteren danke ich Anna Grünwald, Björn Studer, René Saladin und Irena Paunovic für die Hilfe an diversen Laborgeräten, Brett Robinson für die Korrektur des Abstracts sowie Beat Schäffer und Martin Tschan für all die guten Tipps rund um das Schreiben der Diplomarbeit und am Computer. Ich bedanke mich bei allen MitarbeiterInnen des Fachbereichs Bodenschutz und des ITÖ, die mir in irgendeiner Weise bei meiner Arbeit geholfen haben und dazu beigetragen haben, dass ich mich am Institut wohl gefühlt habe.

Inhaltsverzeichnis

Abstract	II
Zusammenfassung	III
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Ausgangslage	1
1.2 Fragestellungen	6
1.3 Hypothesen	6
1.4 Versuche	7
2 Grundlagen	8
2.1 Komplexbildner	8
2.1.1 EDDS – (S,S)-N,N'-Ethyldiamin-Di-Succinat	9
2.1.2 NTA – Nitrilotriacetat	10
2.1.3 EDTA – Ethyldiamintetraacetat	10
2.1.4 DTPA – Diethylentriaminpentaacetat	11
2.2 Zink	11
2.3 Wurzelbildung und Endodermis	12
3 Material und Methoden	14
3.1 Pflanzenzucht	14
3.2 Nährlösung	14
3.3 Experiment	16
3.4 Ernte und Probenvorbereitung erster Versuch (Zink-/Komplexbildnergehalt)	18
3.5 Analyse des Zinkgehalts	18
3.5.1 Aufschluss	18
3.5.2 AAS (Atomic Absorption Spectrometry)	18
3.6 Analyse der Komplexbildner	19
3.6.1 EDDS	19
3.6.2 DTPA	20
3.6.3 Methodenentwicklung für EDTA und NTA	21
3.7 Speziierungsrechnung	22
3.8 Vorbereitung der Präparate zweiter Versuch (Mikroskopie)	23
3.8.1 Schnitte	23
3.8.2 Färbung	24
3.8.3 Montage	25
3.9 Mikroskop	25
4 Resultate	26
4.1 Äusserliche Erscheinung der Pflanzen	26
4.2 Pflanzentrockengewicht	29
4.3 Speziierung der Nährlösigkeit vor und nach dem Experiment	30
4.4 Zinkgehalt in den Pflanzen	32
4.5 Komplexbildnergehalt	35
4.6 Komplexbildner vs. Zink	36
4.7 Mikroskopie	37
5 Diskussion	49
6 Schlussfolgerungen	54
7 Ausblick	55
Literaturverzeichnis	56
Anhang	59

Abstract

There are various remediation techniques to remove heavy metals from polluted soils. An as-yet unproven technology is phytoextraction, which is low-cost but slow. Complexing agents can affect the uptake of certain heavy metals by plants. Most investigations have been carried out with EDTA. EDTA is efficient, but persists in the soil. Biodegradable complexing agents may be an environmentally sound alternative. Plant metal-uptake is dependent on both the metal type and complexing agent. Here we aimed to compare the effect of four complexing agents, EDTA, DTPA, EDDS and NTA, on zinc uptake by sunflowers. Sunflowers were grown in nutrient solutions for six days in presence and absence of zinc and the complexing agents. Afterwards the zinc was measured in nutrient solution, root and shoot. The concentrations of EDDS and DTPA were measured in the plant material. Our hypothesis was that plant zinc uptake would be inversely proportional to the stability constant of the zinc-chelate complex. We would thus expect the plants treated with NTA to take up the highest amount of zinc, followed by EDDS, EDTA and DTPA. However, our measurements showed that plants treated with EDDS accumulated significantly more zinc than those treated with NTA. Consequently, the hypothesis had to be rejected. EDDS differs from the other three complexing agents in its functional groups. EDDS contains secondary amines whereas the other three contain tertiary amines. This may affect zinc uptake by plants. A possible reason for the increased zinc uptake by EDDS treated plants may be the higher dissociation rate of the zinc-EDDS-complex. This may result in a higher concentration of free zinc in the vicinity of the plant root. Previous experiments have shown that plants accumulate free zinc more readily than complexed zinc. The dissociation rate of the four complexing agents has to be measured in order to verify this assumption.

Our second aim was to investigate in which way the zinc complexes enter into the aerial parts of the plants. We hypothesised that metal complexes can only get through the cortex on the apoplastic pathway. It is thought that solutes can't pass through the endodermis because of the Casparian strip. However, this barrier has some leaks where the lateral roots penetrate the endodermis. It might be possible that the complexes pass through these leaks into the stele and thus into the aerial parts of the plants. Using two zinc staining methods with a light microscope it was aimed to demonstrate this pathway. Unfortunately these methods were unsuitable. What could be seen was that plants take up much less zinc in presence of complexing agents and that the zinc complexes predominantly stayed in the tissues outside of the endodermis. Further investigations by changing the methods are necessary for the determination of the pathway which metal complexes follow into the stele.

Zusammenfassung

Schwermetallverschmutzte Böden können mit verschiedenen Methoden gereinigt werden. Eine sanfte Methode ist die Phytosanierung, welche aber sehr langsam abläuft. Mithilfe von Komplexbildnern kann die Aufnahme bestimmter Schwermetalle durch Pflanzen beschleunigt bzw. beeinflusst werden. Die meisten Untersuchungen wurden bis jetzt mit EDTA durchgeführt. EDTA ist zwar effizient, im Boden jedoch persistent. Als Alternative können diverse biologisch abbaubare Komplexbildner eingesetzt werden. Je nach Metall, das komplexiert werden soll, und je nach dem, welcher Komplexbildner zugefügt wurde, ist die Aufnahme durch die Pflanze unterschiedlich hoch. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der vier Komplexbildner EDTA, DTPA, EDDS und NTA auf die Aufnahme von Zink durch Sonnenblumen untersucht. Dazu wurden die Sonnenblumen in Nährlösungen gezogen und während sechs Tagen verschiedenen Behandlungen mit den vier Komplexbildnern, jeweils mit und ohne Zink, ausgesetzt. Anschliessend wurde der Zinkgehalt der Nährlösung, der Pflanzenwurzeln und der Sprosse gemessen. Ebenfalls gemessen wurden die Komplexbildnerkonzentrationen von EDDS und DTPA. Die Annahme war: Je grösser die Komplexbildungskonstante, desto geringer die Zinkaufnahme durch die Pflanze. Daraus wurde gefolgert, dass mit NTA behandelte Pflanzen am meisten Zink aufnehmen würden. An zweiter Stelle wurde EDDS erwartet, gefolgt von EDTA und am Schluss DTPA. Die Messungen ergaben jedoch, dass mit EDDS behandelte Pflanzen deutlich mehr Zink aufnehmen als jene mit NTA. Dementsprechend musste die Hypothese verworfen werden. EDDS unterscheidet sich von den andern drei Komplexbildnern in der Grundstruktur. Während EDDS sekundäre Amine enthält, besitzen die andern drei jeweils tertiäre Stickstoffatome. Dieser strukturelle Unterschied könnte einen Einfluss haben. Möglicher Grund für die erhöhte Zinkaufnahme bei mit EDDS behandelten Pflanzen gegenüber jenen mit den andern drei Komplexbildnern könnte eine höhere Dissoziationsrate des Zink-EDDS-Komplexes sein. Durch das eventuell schnellere Dissoziieren dieses Komplexes würde der Pflanze mehr freies Zink zur Verfügung stehen, welches sie leichter aufnehmen kann als komplexiertes Zink. Diese Rate müsste zur Überprüfung dieser Annahme noch experimentell ermittelt werden.

Im Weiteren sollte herausgefunden werden, wie die Zinkkomplexe in die oberirdischen Pflanzenteile gelangen können. Es wird angenommen, dass Metallkomplexe wegen ihrer Grösse nur über den Apoplasten durch den Kortex zur Endodermis gelangen können. Ein Passieren der Endodermis wäre wegen des Casparystreifens, welcher für Wasser und gelöste Stoffe eine Barriere bildet, eigentlich unwahrscheinlich. Diese Barriere hat jedoch einige undichte Stellen, wo die Seitenwurzeln die Endodermis durchbrechen. Es ist möglich, dass die Komplexe durch diese Lecke in der Endodermis in die Leitbündel und somit in die oberirdischen Pflanzenteile gelangen können. Mithilfe eines Lichtmikroskopes und zweier Zinkfärbemethoden sollte dies nachgewiesen werden. Leider eig-

neten sich diese Methoden nicht dazu. Sichtbar war jedoch, dass die Pflanzen in Gegenwart von Komplexbildnern massiv weniger Zink aufnahmen und dass sich diese Komplexe vorwiegend in den Geweben ausserhalb der Endodermis befanden. Für die Ermittlung des Pfades, welchem die Metallkomplexe von der Wurzeloberfläche bis hin zu den Leitbündeln verfolgen, sind weiterführende Untersuchungen durch Änderungen oder die Wahl von anderen Methoden nötig.

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomic absorption spectroscopy
DTPA	Diethylenetriaminepentaacetic acid
CDTA	Cyclohexylendinitrilotetraessigsäure
EDDS	Ethylendiamine-N,N'-disuccinic acid
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
HPLC	high performance liquid chromatography
ITÖ	Institut für Terrestrische Ökologie
MES	2-morpholinoethane-sulfonic acid monohydrate
NTA	Nitrilotriacetic acid
rF	relative Luftfeuchtigkeit
TS	Trockensubstanz
WSL	Eidgenössische Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft

1 Einleitung

1.1 Ausgangslage

Schwermetallbelastete Böden sind weltweit ein Problem. Ihre Ursachen sind vielfältig. Neben den natürlichen pedogenen Belastungen gibt es zahlreiche anthropogene Quellen wie Bergbau, Industrie, atmosphärische Deposition (Verbrennungsanlagen, Verkehr etc.), Landwirtschaft (Dünger, Pestizide, Erosion) und Abfalldeponien (Ross, 1994). Solche belasteten Böden können das Pflanzenwachstum beeinträchtigen sowie Mensch und Tier durch direkte Aufnahme des Bodens bzw. durch den Verzehr schwermetallhaltiger Pflanzen gefährden. Aus diesem Grund müssen Böden mit zu hoher Belastung saniert werden (VBBo, 1998). Mulligan et al. (2001) unterscheiden unter anderem zwischen ex und in situ Bodensanierungsmethoden. Bei ex situ Behandlungen muss der Boden zuerst ausgehoben werden, um anschliessend physikalisch, mit Wasser oder mit hohen Temperaturen gereinigt zu werden. In situ Behandlungen werden vor Ort und ohne Aushub des Bodens durchgeführt. Beispiele dafür sind: Anlegen von durchlässigen Barrieren, Bodenwäsche, Anwendung von Strom und Phytosanierung. Die Phytosanierung eignet sich vor allem für flachgründige Böden und Gewässer (Mulligan et al., 2001). Sie ist kostengünstig, umweltfreundlich (Salt et al., 1998) und schont die Bodenstruktur und -fruchtbarkeit (Kumar et al., 1995). Fünf Hauptgruppen der Phytosanierung werden unterschieden: Phytoextraktion, Phytodegradation, Rhizofiltration, Phytostabilisation und Phytovolatilisation (Pulford and Watson, 2002). In der vorliegenden Arbeit wird die Phytoextraktion betrachtet, in welcher die Pflanzen Metalle aus dem Boden bzw. aus der Nährlösung entfernen und diese in den oberirdischen Pflanzenteilen akkumulieren.

Die drei Hauptrichtungen der Phytoextraktion sind:

1. die Verwendung von hyperakkumulierenden Pflanzen,
2. die Verwendung von Pflanzen mit einer hohen Biomasse und
3. komplexbildnerunterstützte Phytoextraktion unter Verwendung von Pflanzen mit einer hohen Biomasse (Garbisu and Alkorta, 2001).

Hyperakkumulierende Pflanzen weisen meist eine kleine Biomasse auf, weshalb die Extraktion von grossen Mengen an Metallen mit solchen Pflanzen eingeschränkt ist (Blaylock et al., 1997). Der Fokus richtet sich heute vermehrt auf die mit Komplexbildnern unterstützte Schwermetallaufnahme durch Pflanzen mit hoher Biomasse (Schmidt, 2003). Der Weg eines Stoffes vom Boden in den Pflanzenspross erfolgt in mehreren Etappen: Von den festen Bodenpartikeln über die flüssige Phase zur Wurzeloberfläche, von dort durch den Wurzelkortex und die Endodermis zu den Leitbündeln

und schliesslich über das Xylem bzw. das Phloem in die oberirdischen Pflanzenteile. Metalle müssen in einem ersten Schritt von den Bodenpartikeln bzw. vom organischen Material gelöst werden. Sind sie einmal in Lösung, können sie durch Diffusion an die Oberfläche der Pflanzenwurzeln gelangen. Mineralnährstoffe und niedermolekulare gelöste Stoffe (Ionen, organische Säuren, Aminosäuren) können sich durch Diffusion oder Massenfluss durch die Rhizodermis und zwischen den Kortexzellen passiv bewegen. Da die Poren in den Zellwänden von Pflanzen jedoch maximal 5 nm gross sind, werden gelöste Stoffe mit höherem Molekulargewicht wie z.B. Metallchelate wegen ihres grossen Durchmessers entweder stark gehindert oder können gar nicht in den freien Raum der Wurzeln gelangen. Auf der Wurzeloberfläche sowie im freien Raum der Wurzel gibt es viele carboxylische Gruppen, welche als Kationenaustauscher agieren. Metallionen können so adsorbiert werden. Eine hohe Kationenaustauschkapazität ist zwar nicht unbedingt nötig für die Ionenaufnahme, sie führt jedoch dazu, dass sich Ionen ansammeln können und für den aktiven Aufnahmeweg in grösserer Menge verfügbar sind. Für den Transport gelöster Stoffe durch den Kortex zu den Leitbündeln gibt es zwei parallele Pfade (siehe Abbildung 1):

1. passiver Transport durch Diffusion und Massenfluss im Apoplasten (Zellwände und Zwischenzellraum)
2. aktive Aufnahme durch das Plasmalemma und passiver Transport im Symplasten (von Zelle zu Zelle)

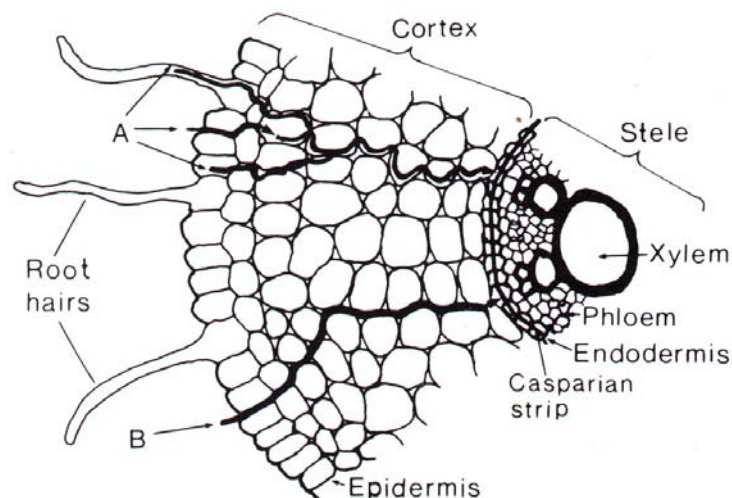


Abbildung 1: Querschnitt durch Maiswurzel. (A) symplastischer und (B) apoplastischer Weg des Ionentransports durch die Wurzel (reproduziert aus Marschner, 1986).

Der Transport durch den Apoplasten findet an der Endodermis, der innersten Schicht des Kortex, ein Ende durch den Caspary-Streifen. Dieser Streifen ist suberisiert (hydrophobe Verkrustung) und umgibt jede Zelle der Endodermis vollständig. Er bildet eine Barriere im Apoplasten zwischen dem Kortex und den Leitbündeln. Spätestens hier müssen die Nährstoffe durch das Plasmalemma in das Cytoplasma der Endodermiszellen übertreten, wenn sie nicht schon weiter aussen in den Symplasten aufgenommen wurden. Es gibt jedoch einige „undichte“ Zonen in der Barriere. Sie befinden sich in der Wurzelbildungszone, wo die Differenzierung der verschiedenen Zelltypen noch nicht abgeschlossen ist, und in der basalen Zone, wo laterale Wurzeln die Endodermis durchdringen. Laterale Wurzeln entwickeln sich aus dem Perizykel in den Leitbündeln. Radialer Transport von der externen Lösung durch den Apoplasten in die Leitbündel könnte in dieser Zone wichtig sein. Die Ionenaufnahme durch Pflanzen ist charakterisiert durch Selektivität, Akkumulation und Genotyp. Das heisst, nicht alle Ionen werden gleich stark aufgenommen, die Konzentration an Ionen kann in der Pflanze höher sein als in der Umgebung, und es gibt deutliche Unterschiede unter den Pflanzenspezies, was die Ionenaufnahme betrifft. Für die Selektivität braucht es spezifische Bindestellen, die „Carriers“, welche Ionen oder ungeladene Moleküle binden und durch die Membrane transportieren. Je grösser sowie je stärker geladen das Ion ist, desto geringer ist dessen Aufnahme. Es wird angenommen, dass die Anzahl an Carriers in der Membrane limitiert ist. Daraus kann mithilfe der Michaelis-Menten-Gleichung die Sättigungskinetik berechnet werden. Zwischen Ionen derselben Ladung und mit ähnlichen physiochemischen Eigenschaften, wie Wertigkeit und Durchmesser, herrscht an der Membrane ein Wettbewerb um die vorhandenen Carrier. Äussere Einflüsse, wie z.B. die Temperatur, haben ebenfalls Einfluss auf die Aufnahme von Nährstoffen durch Pflanzen (Marschner, 1986).

Die häufigsten Untersuchungen zur Phytoextraktion wurden bis jetzt mit EDTA durchgeführt (Blaylock et al. 1997, Epstein et al. 1999, Grčman et al. 2001, Huang et al. 1997, Wu et al. 2004). Dieses ist zwar effizient, im Boden jedoch persistent. Daher ist die Gefahr besonders gross, dass Komplexbildner nicht nur Metalle aus der Bodenstruktur lösen, sondern diese anschliessend auch als Metallkomplexe ins Grundwasser gelangen (Grčman et al. 2001, Wenzel et al. 2003, Wu et al. 2004). Alternativen zu EDTA sind z.B. DTPA, NTA oder EDDS, wobei die letzten beiden biologisch abbaubar sind (Knepper and Weil, 2001). In ihrer Dissertation (ETH Diss. Nr. 16039, 2005) hat Susan Tandy am ITÖ (Institut für Terrestrische Ökologie) das Potential von EDDS als Alternative zu EDTA und anderen synthetischen Komplexbildnern im Zusammenhang mit Bodenwäsche und komplexbildnerunterstützter Phytoextraktion untersucht. Susan Tandy hat unter anderem mit Nährlösungsexperimenten abgeklärt, ob EDDS die Aufnahme von Kupfer, Zink oder Blei aus der Lösung erhöhen würde. EDDS verringerte dabei die Aufnahmen der essentiellen Metalle Kupfer und Zink,

während es die Aufnahme von Blei erhöhte. Tandy's Hypothese ist, dass in Anwesenheit von EDDS alle drei Metalle durch einen nicht selektiven, d.h. rein apoplastischen Weg als Komplex aufgenommen wurden, während in Abwesenheit von EDDS die selektive Aufnahme von essentiellen Metallen auf dem symplastischen Weg erfolgte. In Topfexperimenten stellte sie weiter fest, dass EDDS die Phytoextraktion von Zink in künstlich kontaminierten Böden (ausschliessliche Zink-Kontamination) erhöhte. In mit Kupfer, Zink, Cadmium und Blei belasteten Böden aus dem Feld konnte sie jedoch eine erhöhte Zinkaufnahme dank EDDS nur in einem von drei Fällen feststellen. Tandy (2005) schliesst daraus, dass der Einfluss des Komplexbildners auf die Löslichkeit der Metalle in den untersuchten Böden während der Phytoextraktion wichtiger war als die Erhöhung der Aufnahme in die Pflanzen durch den Komplexbildner. Um einen Vergleich mit ihren Daten möglich zu machen, was eines der Ziele dieser Diplomarbeit war, wurden die von Tandy (2005) verwendeten Methoden und Versuchsanordnungen mehrheitlich übernommen.

Je nach Metall, das komplexiert werden soll, nehmen die Pflanzen unterschiedlich viel davon auf. Auch gibt es Unterschiede zwischen den Aufnahmemengen bestimmter Metalle, je nachdem, welcher Komplexbildner eingesetzt wird. In der Bodenwäsche mithilfe von Komplexbildnern sind z.B. NTA und EDDS bei pH 7 effektiver in der Extraktion von Zink als EDTA. Grund dafür ist unter anderem die Konkurrenz des Zink mit Calcium, welches ebenfalls stark mit EDTA komplexiert, nicht aber mit den beiden andern Komplexbildnern (Tandy et al. 2004). Auf diese Weise steht den Pflanzen bei einer Behandlung des Bodens mit EDDS mehr mobiles Zink zur Verfügung als beim EDTA. Die meisten Schwermetalle liegen im Boden entweder in fester oder in gelöster Form vor. Sie können in natürliche Mineralien eingebunden sein, als Oxide, Hydroxide, Sulfide und Carbonate vorliegen oder durch physikalische Adsorption, Okklusion, Chemisorption oder komplex an verschiedene Trägersubstanzen fixiert sein (Roos, 1995). In Pflanzennährlösungen liegt das Metall entweder in seiner freien Form, als Hydroxid, Nitrat, Sulfat oder im Komplex mit den jeweiligen Komplexbildnern vor. Alle andern Einflüsse, welche den Transport des Metalls aus dem Boden zur Wurzel beeinflussen (Kapillarkräfte, Adsorption, Okklusion etc.), fallen in Nährlösungsversuchen weg. In Nährlösungsexperimenten soll nun festgestellt werden, welche weiteren Parameter noch einen Einfluss auf die Aufnahme von Zink haben, wenn Komplexbildner eingesetzt werden. Der Vorteil an Versuchen mit Nährlösungen gegenüber Feldversuchen ist, dass alle Inhaltsstoffe inkl. deren Konzentration und Spezifizierung bekannt sind, bzw. berechnet werden können. Es kann ein direkter Vergleich der verschiedenen Komplexbildner gemacht werden, da sie die einzigen Parameter sind, die sich zwischen den Behandlungen unterscheiden. Besteht also ein Unterschied in der Zinkaufnahme in Anwesenheit verschiedener Komplexbildner, so ist dies mit Sicherheit auf den Einfluss der Komplexbildner zurückzuführen. Für Feldversuche heisst dies, dass zwischen den Komplexbildnern of-

fensichtlich ein Unterschied besteht. Wie sich dieser jedoch im Feld auswirkt, muss zuerst noch überprüft werden.

Die Pflanzenverfügbarkeit von Metallen hängt gemäss dem „Free-Ion Activity Model“ (FIAM) mit der Konzentration an freien Metallen in der Lösung zusammen (Campbell, 1995). In Speziierungsrechnungen können die Konzentrationen freier Metalle mit den jeweiligen Stabilitätskonstanten bestimmt werden. Die Unterschiede in der Höhe dieser Konstanten könnten deshalb einen Einfluss auf die Metallaufnahme von Pflanzen haben. Bell et al. (2003) untersuchten in Nährlösungsexperimenten die Aufnahme von EDTA-Komplexen durch Mangold (*Beta vulgaris*). Sie stellten fest, dass Mangold C-EDTA¹⁻ dem C-EDTA²⁻ vorzieht. Das heisst, die Pflanze nahm mehr vom Komplex mit der niedrigeren Ladung auf. Sie erklären diesen Effekt unter anderem mit der abstossenden Wirkung der Kationenaustauschstellen in den Zellwänden gegenüber den ebenfalls negativ geladenen Komplexen. Auch die Grösse der Poren in der Plasmamembrane bzw. der Komplexe, welche die Membrane passieren wollen, könnte einen Einfluss auf deren Aufnahme haben.

1.2 Fragestellungen

Verschiedene Komplexbildner liefern unterschiedliche Resultate in der Aufnahme von Zink durch Pflanzen. Es stellt sich die Frage, weshalb es solche Abweichungen gibt. Hat die Komplexbildungskonstante einen Einfluss auf die Aufnahme von Zink durch Sonnenblumen?

In verschiedenen Pflanzensprossen wurden bereits Komplexbildner nachgewiesen. Das heisst, sie müssen auf irgendeinem Weg in die Sprosse gelangen. Gelangen die Komplexe über die lecken Stellen im Casparystreifen in die Pflanzensprosse?

1.3 Hypothesen

Zu den oben genannten Fragestellungen wurden die folgenden Hypothesen gebildet:

1. Je höher die Komplexbildungskonstante, desto stabiler der Komplex und desto weniger freies Zink ist in der Nährlösung. Je weniger freies Zink in der Nährlösung, desto kleiner ist die Zinkaufnahme durch die Pflanze. Daraus ergibt sich die folgende Reihenfolge:
$$\text{NTA} > \text{EDDS} \geq \text{EDTA} > \text{DTPA}$$
2. Metallkomplexe gelangen durch die lecken Stellen im Casparystreifen von der Wurzelrinde in die Leitbündel.

1.4 Versuche

Für die Beantwortung der Fragen bzw. zur Prüfung der Hypothesen wurden zwei Teilversuche durchgeführt. Es wurden Sonnenblumen in Nährlösungen gezogen und während fünf bzw. sechs Tagen verschiedenen Behandlungen mit den vier Komplexbildnern EDDS, EDTA, DTPA und NTA mit und ohne Zink ausgesetzt. Zur Beantwortung der Frage 1 wurde der Zinkgehalt der Nährlösungen, der Pflanzenwurzeln und der Sprosse gemessen. Ebenfalls gemessen wurden die Komplexbildnerkonzentrationen von EDDS und DTPA. Für NTA und EDTA konnte leider keine Methode gefunden werden. Für die zweite Frage wurden Wurzelquerschnitte unter dem Lichtmikroskop angeschaut. Zur Detektion des Zinkes wurden zwei verschiedene Zinkfärbemethoden der WSL angewendet. Es wurden jene Stellen der Wurzel speziell untersucht, wo die Seitenwurzeln die Endodermis und somit den Casparystreifen durchbrechen.

2 Grundlagen

2.1 Komplexbildner

Komplexe setzen sich zusammen aus einem zentralen Kation (meist ein Metallion) und an sie gebundene Anionen oder Moleküle, die man als Liganden bezeichnet. Die Bindung zwischen dem Metallion und dem Liganden beruht einerseits auf einer elektrostatischen Anziehung zwischen Anionen und Kationen, sie weist z.T. aber auch einen kovalenten Charakter auf. Dabei wirken die Metallionen als Elektronenpaar-Akzeptoren und die Liganden als Elektronenpaar-Donoren. Die Anzahl Donoratome, die ans Zentralion gebunden sind, wird mit der Koordinationszahl angegeben. Kann der Ligand jeweils nur mit einem Atom als Donor agieren, wird er einzähnig genannt. Mehrzähnig sind Liganden, bei denen mehrere Atome dazu fähig sind, als Donor zu wirken. Diese können gleichzeitig an benachbarte Koordinationsstellen des Zentralions angreifen. Solche Komplexe werden Chelate genannt. Die Eigenschaften eines Komplexes unterscheiden sich sowohl von den Eigenschaften des Metallions als auch von denen der Liganden. Es kann z.B. vorkommen, dass durch die Komplexbildung die Oxidation oder Reduktion des Metallions bedeutend erschwert wird. Auch die Löslichkeit des Metallions kann sich markant von der des Komplexes unterscheiden (Brown et al., 1988). Die Komplexbildungskonstante K_f gibt die Stabilität des Komplexes unter Standardbedingungen an. Je höher die Konstante, desto stabiler der Komplex. Die Stabilität des gebildeten Komplexes hängt vom Metallion, dem Komplexbildner, dem pH-Wert und von der Temperatur ab. Nicht jeder Komplexbildner ist in der Lage, alle Metallionen gleichermassen zu komplexieren (Knepper and Weil, 2001). Komplexbildner haben das Potential, die natürliche Speziesierung von Metallen zu verändern und deren Bioverfügbarkeit zu beeinflussen. Ihre Anwesenheit in hohen Konzentrationen kann die Wiedermobilisierung von Metallen aus Sedimenten und grundwasserhaltigen Zonen hervorrufen und dadurch das Grundwasser und das Trinkwasser gefährden (Nowack and Van Briesen, 2005). Das Erhöhen der Metalllöslichkeit durch Komplexbildner kann aber auch Vorteile mit sich bringen. In der Landwirtschaft ist es z.B. üblich, bei Eisenmangel das Eisen in Form eines Komplexes, z.B. $[\text{FeEDTA}]^{2+}$, zuzugeben. Das Eisen kann dann nicht mehr ausgefällt werden und steht der Pflanze somit besser zur Verfügung. Befindet sich der Chelat-Komplex einmal in der Pflanze, so kann das Eisen daraus nach Bedarf freigesetzt werden (Brown et al., 1988).

In dieser Arbeit werden die Einflüsse der vier Komplex- bzw. Chelatbildner EDDS, NTA, EDTA und DTPA auf die Aufnahme von Zink durch Sonnenblumen untersucht und miteinander verglichen. Diese Komplexbildner gehören zur Gruppe der Aminopolycarboxylate, welche an zentraler Position tertiäre Amine enthalten (EDDS enthält sekundäre Amine). Die an Alkylresten gebundenen Säure-

gruppen sind um die Stickstoffatome gruppiert. Mindestens vier funktionelle Gruppen, die Donoreigenschaften besitzen, sind räumlich so angeordnet, dass sie mit mehrwertigen Metallionen in der Regel unter Ausbildung von fünf- oder sechsgliedrigen Ringen 1:1-Komplexe bilden können. In der Umwelt liegen die Komplexbildner nicht in freier Form, sondern in der Regel als Komplexe vor. Die Komplexe halten das Metallion in ihrem Zentrum. Es ist koordinativ an Stickstoff- und Sauerstoffatome gebunden. An den Ligandenpositionen des Metallions, die nicht besetzt sind, befinden sich Wassermoleküle oder Hydroxidionen (Knepper and Weil, 2001).

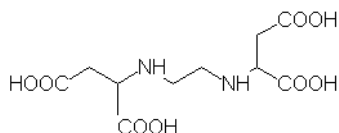
Alle vier Komplexbildner zeigen eine geringe Ökotoxizität, wobei die einzelnen Testergebnisse, welche Knepper und Weil (2001) miteinander verglichen, sehr stark von den Messbedingungen abhängig sind.

Diese Komplexbildner werden oft verwendet als Zusatz in Wasch- und Reinigungsmitteln, Textil-, Papier- und Zellstoffindustrie, Photoindustrie, Galvanik, Oberflächentechnik, Molkereien, Landwirtschaft, Arzneimittel-, Kosmetik- und Lebensmittelindustrie. Seit einigen Jahren wird die Verwendung von Komplexbildnern zur Unterstützung der Phytoextraktion untersucht (Knepper and Weil, 2001).

2.1.1 EDDS – (S,S)-N,N'-Ethylendiamin-Di-Succinat

Summenformel: $C_{10}H_{16}O_8N_2$

Strukturformel:



Ladung: $[EDDS]^{4-}$

Koordinationszahl: 6 (sechszählig)

Komplexbildungskonstante: $\log K_{Zn^{2+}} = 13.0$ (bei 0.1 M und 25°C)

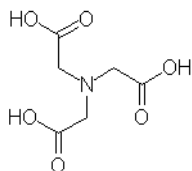
Biologischer Abbau: leicht

Besonderheiten: S,S-EDDS ist ein Konstitutionsisomer von EDTA. Es wird in der Natur vom Actinomycetenstamm *Acymolatopsis japonicum* produziert. Die im Rahmen der chemischen Synthese enthaltene R,R-Form, wie auch die beiden meso-Formen R,S und S,R sind im Gegensatz zur S,S-Form weniger leicht abbaubar (Knepper and Weil, 2001).

2.1.2 NTA – Nitrilotriacetat

Summenformel: $\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_6\text{N}$

Strukturformel:



Ladung: $[\text{NTA}]^{3-}$

Koordinationszahl: 4 (vierzählig)

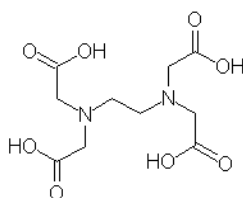
Komplexbildungskonstante: $\log K \text{ Zn}^{2+} = 10.7$ (bei 0.1 M und 25°C)

Biologischer Abbau: leicht

2.1.3 EDTA – Ethylendiamintetraacetat

Summenformel: $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$

Strukturformel:



Ladung: $[\text{EDTA}]^{4-}$

Koordinationszahl: 6 (sechszählig)

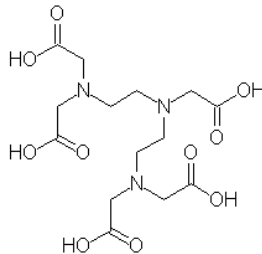
Komplexbildungskonstante: $\log K \text{ Zn}^{2+} = 16.4$ (bei 0.1 M und 25°C)

Biologischer Abbau: schwer

2.1.4 DTPA – Diethylenetriaminpentaacetat

Summenformel: $C_{14}H_{23}N_3O_{10}$

Strukturformel:



Ladung: $[DTPA]^{5-}$

Koordinationszahl: 8 (achtzählig)

Komplexbildungskonstante: $\log K \text{ Zn}^{2+} = 18.3$ (bei 0.1 M und 25°C)

Biologischer Abbau: schwer

2.2 Zink

Zink ist ein weiches, weisses Metall mit einem leichten Blauton. Bodenstruktur, pH, Muttergestein und Gehalt an organischem Material haben alle einen Einfluss auf den natürlichen Zinkgehalt im Boden. Unter sauren Bedingungen geht Zink als Zn^{2+} in Lösung und ist dann recht mobil. Zink hydrolysiert bei einem pH zwischen 7.0 und 7.5. Bei pH-Werten über 8 bildet sich $\text{Zn}(\text{OH})_2$. Unter anaeroben Konditionen fällt ZnS aus, jenes Zn, das nicht ausgefällt wird, bildet ZnOH^+ , ZnCO_3 und ZnCl^+ . Natürliche Zinkgehalte im Boden variieren im Allgemeinen zwischen 30 und 150 ppm. Zinkquellen sind Messing- und Bronzelegierungen, galvanisierte Produkte, Gummi, Kopierpapier, Kosmetik, Medikamente, Batterien, Fernseher, Pneus, Metallbeschichtungen, Glas, Farbe und Mischungen auf Zinkbasis (Cameron 1992, zit. in Mulligan et al., 2001).

Zink ist ein wichtiges Pflanzennährelement. Es agiert entweder als Enzymbestandteil oder als funktionaler, struktureller oder regulatorischer Kofaktor einer grossen Anzahl von Enzymen. Zinkmangel beeinträchtigt den Kohlenhydratstoffwechsel und die Proteinsynthese und zeigt sich in einem verküppelten Wachstum, einer drastischen Reduktion des Blattwachstums und Chlorosis (Bleichsucht). Der kritische Wert für Zinkmangel liegt bei 15-20 mg/kg Blatttrockengewicht. Bei zu hohen Konzentrationen wirkt Zink toxisch. Hier liegt der kritische Wert für Nutzpflanzen bei 400-500 mg

Zink pro kg Trockengewicht. Zinktoxizität führt zur Hemmung des Wurzelwachstums und zeigt sich ebenfalls in Form von Chlorosis der jungen Blätter. Pflanzen reagieren auf Zinküberschuss ähnlich wie beim Kupfer: verminderte Aufnahme, Immobilisierung des Zinks in den Zellwänden, Kompartimentierung des Zinks als lösliche Komplexe in den Vakuolen etc. (Marschner, 1986).

2.3 Wurzelbildung und Endodermis

Das Längenwachstum einer Wurzel findet an der Wurzelspitze statt. Alter und Differenzierungsgrad der Wurzel nehmen also von der Spitze in Richtung Basis zu. Die primäre Wurzel lässt sich in vier sukzessive Zonen unterteilen. Die Differenzierungszone, die Wurzelhaarzone mit primärer Endodermis, die Zone der sekundären Endodermis und die Zone der Seitenwurzelbildung mit Hypodermis und tertiärer Endodermis (Abbildung 2). In der Wurzelhaarzone vollzieht sich die Wasser- und Nährsalzaufnahme. Die primäre Endodermis, welche die innerste Zellschicht der Rinde bildet, ist mit einer dem Suberin ähnlichen lipophilen Substanz, dem Caspary-Streifen, imprägniert. Dieser ist für Wasser undurchlässig, was die Endodermis zu einer physiologischen Barriere für den Transport von Wasser und darin gelösten Substanzen macht.

Oberhalb der Wurzelhaarzone beginnt die Bildung von Seitenwurzeln. Hier wird die Endodermis sekundär verändert, indem von innen eine Auflagerung von Suberinlamellen auf die Zellwände erfolgt. Die Zellwände werden verkorkt. In regelmässigen Abständen bleiben jedoch Zellen ausgespart. Diese Durchlasszellen ermöglichen die Aufrechterhaltung eines begrenzten Stoffaustausches zwischen der Rinde und dem Zentralzylinder. Im weiteren Verlauf der Ausdifferenzierung können auf die Wände der sekundär veränderten Endodermiszellen noch mehrfache Schichten von Cellulose aufgelagert werden. Die tertiäre Endodermis wird gebildet. Die Entwicklung der Seitenwurzeln geht vom Zentralzylinder aus. Seitenwurzeln entstehen also endogen, im Innern der Wurzel, und müssen die Rinde und damit auch die Endodermis durchbrechen, bevor sie mit ihrer Spitze nach aussen gelangen (Lüttge et al., 2002).

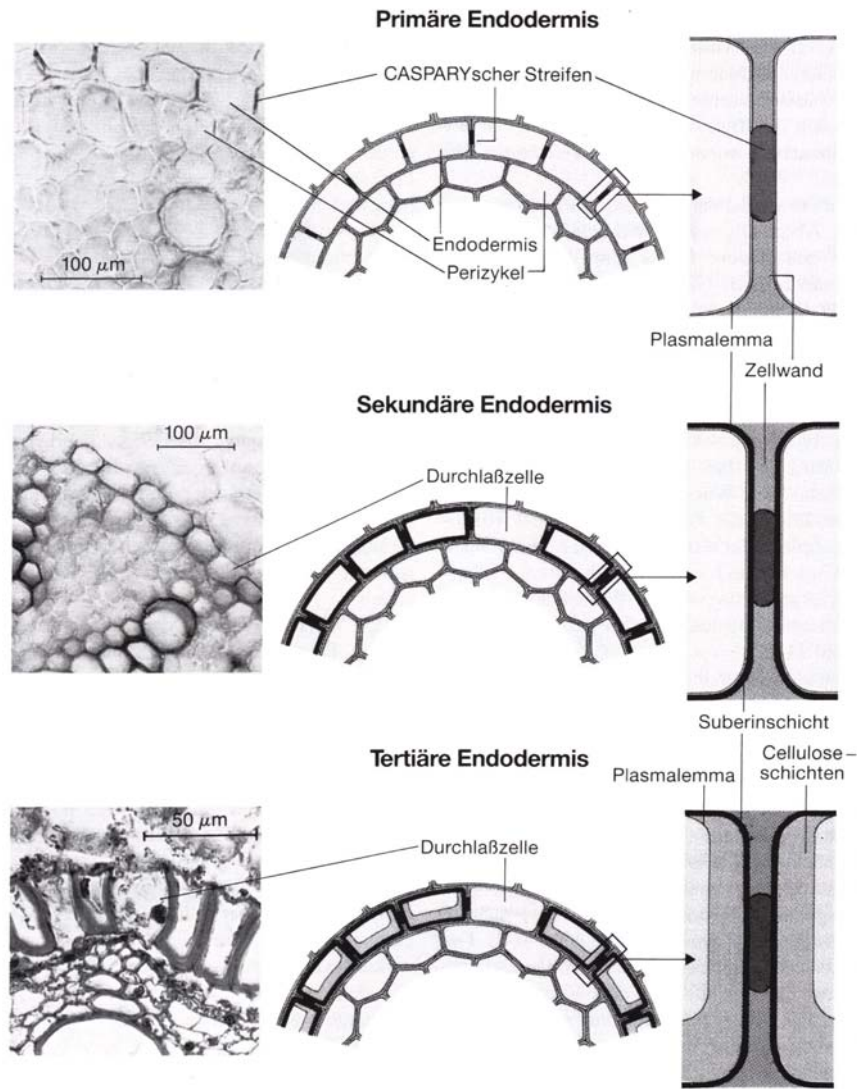


Abbildung 2: Entwicklung der Endodermis.
Mitte: schematischer Querschnitt durch eine primäre Wurzel im Bereich der Endodermis. Rechts: schematische Darstellungen der radialen Zellwände der Endodermis. Links: mikroskopische Bilder von Wurzelquerschnitten im Endodermisbereich (reproduziert aus Lüttge et al., 2002).

3 Material und Methoden

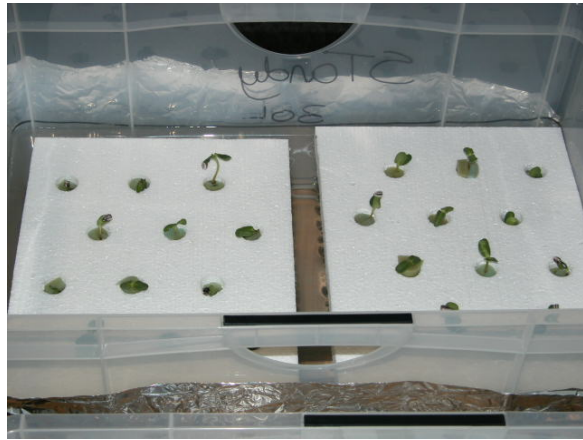
3.1 Pflanzenzucht

Sonnenblumensamen (*Helianthus annuus*) der Sorte Iregi wurden im Sand zur Keimung gebracht. Reiner Sand besteht praktisch ausschliesslich aus Siliziumoxid und hat deshalb im Gegensatz zu Pflanzenerde keinen Einfluss auf den Metallgehalt der Pflanzen. Sonnenblumen sind jedoch sehr heikel, was die Aufzucht in Sand betrifft. Die Spannweite zwischen zu viel und zu wenig Wasser ist sehr klein. Aus diesem Grund wurde eine Mischung aus feinem (0.1 – 0.5 mm) und gröberem (0.7 – 1.2 mm) Sand zu je 50 % gemacht. Der feine Anteil dient der erhöhten Wasserretention, der grobe der Verhinderung von zu grosser Staunässe. Trotz der speziellen Sandzusammensetzung gestaltete sich die Aufzucht im Sand ziemlich schwierig, weshalb mehrere Aussaaten nötig waren. Die Pflanzen für die Mikroskopierung wurden schliesslich in Perlit gezogen. Perlit basiert auf vulkanischem Silikatgestein und ist rein mineralisch. Es wird als Bodenverbesserer für schwere ton- und lehmhaltige Böden verwendet. Perlit speichert Wasser und Nährstoffe, verbessert die Wasserführung und sorgt für einen besseren Luft- und Gasaustausch, was ein Vorteil ist gegenüber dem Sand.

Während dem gesamten Experiment bis zur Ernte befanden sich die Pflanzen in einer Klimakammer mit 16 h (21°C, 50 % rF) / 8 h (15°C, 60 % rF) Tag/Nacht-Zyklus. Nach 14 Tagen hatten die Sonnenblumen eine Grösse von ca. 2-3 cm erreicht.

3.2 Nährlösung

Die Sprösslinge wurden aus dem Sand genommen und in präparierte Styroporplatten versetzt, welche in einer modifizierten Hoagland-Lösung schwammen (siehe Abbildung 3). In dieser modifizierten Nährlösung wurde $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ anstelle von NaFe(III)EDTA verwendet (siehe Tabelle 1, Vorexperiment). NaFe(III)EDTA würde mit andern Komplexbildnern aus dem Experiment in unerwünschter Wechselwirkung stehen und die Ergebnisse beeinflussen.



A



B

Abbildung 3: Aufzucht der Sonnenblumen in der Hoagland-Nährlösung. A: frisch umgepflanzte Sprösslinge. B: Sonnenblumen kurz vor dem Start der Experimente in den Flaschen.

Tabelle 1: Modifizierte Hoagland-Nährlösung für Pflanzenzucht (Vor-Experiment) und Experiment (siehe auch Anhang A, Liste der Chemikalien).

Nährstoffe	Vorexperiment Nährstoffkonzentration (μM)	Experiment Nährstoffkonzentration (μM)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	400	400
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	200	200
KH_2PO_4	100	-
KNO_3	500	500
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10	10
H_3BO_3	10	-
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	2	-
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2	-
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.2	-
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1	-
NaCl	20	-
MES	-	2000
pH*	6.0	6.0

* Einheit nicht μM

3.3 Experiment

Nach 3 Wochen wurden die Sonnenblumen in die Experimentallösung mit Zink und Komplexbildnern versetzt, wobei die Nährlösung erneut abgeändert wurde (Tabelle 1, Experiment). Durch das Weglassen der meisten Mikronährsalze wurde die Konkurrenz der verschiedenen Metalle mit Zink verhindert. Anstelle des Phosphates wurde 2-Morpholinoethansulfonsäure-Monohydrat (MES) verwendet, welches ebenfalls als Puffer wirkt. Dadurch konnte das Ausfällen von Zink-Phosphat vermieden werden. Für den ersten Versuch (Zink- und Komplexbildnergehalt) wurde eine Zink-Konzentration von 122 μM verwendet. Von den Komplexbildnern (DTPA, EDTA, EDDS und NTA) wurden jeweils 132 μM beigelegt (siehe Tabelle 2). Der Komplexbildnerüberschuss von 10 μM gegenüber dem Zink wurde gewählt um die Konkurrenz mit Eisen abzufedern. Auf diese Weise sollten die Komplexbildner und das Zink von den Pflanzen nur in gebundener Form aufgenommen werden.

Tabelle 2: Konzentrationen von Komplexbildnern und Zink für den ersten Versuch (Zink- und Komplexbildnergehalt).

Behandlung	Komplexbildner in μM				Metall in μM
	NTA	EDTA	EDDS	DTPA	Zn
Kontrolle ohne Zn	-	-	-	-	-
Kontrolle mit Zn	-	-	-	-	122
NTA	132	-	-	-	-
Zn/NTA	132	-	-	-	122
EDTA	-	132	-	-	-
Zn/EDTA	-	132	-	-	122
EDDS	-	-	132	-	-
Zn/EDDS	-	-	132	-	122
DTPA	-	-	-	132	-
Zn/DTPA	-	-	-	132	122

Um sicher gehen zu können, dass wirklich das gesamte Zink komplexiert ist, wurde für den zweiten Versuch anstelle von 132 μM Komplexbildnern 500 μM verwendet (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Konzentrationen von EDDS und Zink im Experiment für die Mikroskopie

Behandlung	Komplexbildner in μM	Zink in μM
Kontrolle ohne Zn	-	-
Kontrolle mit Zn	-	122
Zn/EDDS	500	-
Zn/NTA	500	122
Zn/DTPA	500	122
Zn/EDTA	500	122

Von jeder Behandlung aus dem ersten Versuch (Tabelle 2) wurden drei Wiederholungen gemacht. Beim zweiten Versuch (Tabelle 3) wurde nur je eine Pflanze gezogen. Das Experiment wurde während sechs Tagen (für die Mikroskopie während 5 Tagen) in einer Klimakammer in belüfteten, dunkelbraunen, vor Lichteinfall schützenden Flaschen durchgeführt (siehe Abbildung 4). Beim ersten Versuch bestand das Problem, dass die Pflanzen während den sechs Tagen zu viel Wasser aufnahmen. Um den daraus entstandenen Wassermangel zu vermeiden, wurden die Flaschen beim zweiten Versuch täglich mit Nanopur-Wasser wieder aufgefüllt. Beim zweiten Versuch wurde für die Vorbereitung der Präparate und das jeweilige Mikroskopieren vorsichtshalber ein Tag pro Pflanze gerechnet. Infolgedessen wurden nicht alle Pflanzen am selben Tag in die Versuchsnährlösung gesetzt und wurden entsprechend an verschiedenen Tagen geerntet.



Abbildung 4: Sonnenblumen während dem Experiment in der Klimakammer.

3.4 Ernte und Probenvorbereitung erster Versuch (Zink-/Komplexbildnergehalt)

Bei der Ernte wurden die Sprosse ca. 1 cm über der Wurzel abgeschnitten. Sprosse und Wurzeln wurden mit Nanopur-Wasser gewaschen und im Ofen bei 60° C getrocknet. Nach dem Trocknen wurde das Pflanzenmaterial ein weiteres Mal gewogen und anschliessend mithilfe einer Titaniummühle gemahlen. Zusätzlich wurden der Nährlösung vor und nach dem Experiment jeweils 10 ml entnommen, filtriert (0.45 µm), zur Verhinderung der Zinkausfällung mit Säure versetzt und bis zur Messung des Zinkgehalts im Kühlschrank aufbewahrt.

3.5 Analyse des Zinkgehalts

3.5.1 Aufschluss

Damit die Zinkkonzentration im Pflanzenmaterial gemessen werden konnte, musste dieses zuerst chemisch aufgeschlossen werden. Dazu wurden jeweils ca. 250 mg Pflanzenmaterial (oder weniger, falls nicht soviel vorhanden war) mit 2 ml H₂O, 6 ml HNO₃ (65 %) und 2 ml H₂O₂ (30 %) vermischt und in einem Labor-Mikrowellengerät (Lavis ETHOS, EM-2) erhitzt. Das folgende Programm wurde angewendet: 12 Min. bei 250 W, 5 Min. bei 600 W, 12 Min. bei 450 W und 15 Min. ventilieren. Nach dem Abkühlen wurde das aufgeschlossene Pflanzenmaterial in 25 ml Kolben umgeschüttet. Diese wurden bis zur Markierung mit Wasser aufgefüllt. Anschliessend wurden die Proben bis zur Weiterverarbeitung in Plastikröhrchen aufbewahrt. Um die Qualität der Analysen testen zu können, wurde zertifiziertes Referenzmaterial (BCR No 62) aus Olivenblättern (*Olea europaea*) verwendet. Dieses enthält unter anderem 16 µg Zink pro g Trockensubstanz (TS) mit einem Fehler von ± 0.7 µg/g TS und wurde ebenfalls chemisch aufgeschlossen.

3.5.2 AAS (Atomic Absorption Spectrometry)

Die Metallkonzentration wurde mit einem SpectrAA Atomic Absorption Spectrometer der Firma Varian gemessen. Kalibriert wurde das Gerät mit Zinkstandards der Konzentrationen 0, 0.1, 0.5, 1 und 2 mg/l. Diese ergeben einen Messbereich des Zinkes zwischen 0.1 und 2 µg/ml, wofür eine Flammenemission von 213.9 nm Wellenlänge optimal ist. Je nach Zinkkonzentration in der Probe, mussten die Lösungen 10 bis 100-mal verdünnt werden, um in den messbaren Bereich zu gelangen. Der Zinkgehalt in der Nährlösung vor und nach dem Experiment konnte direkt ohne vorgängigen Aufschluss gemessen werden.

3.6 Analyse der Komplexbildner

Für die Messung der Komplexbildner in den Pflanzenproben wurden verschiedene Methoden getestet und entwickelt. EDDS konnte mit der Methode von Tandy et al. (2005a) gemessen werden. DTPA konnte nach diversen Versuchen mit unterschiedlichen Methoden letztlich mit der Methode von Tandy (2005) für EDTA detektiert werden. Leider konnten diverse ausprobierte Methoden nicht für EDTA und NTA im Pflanzenmaterial angewendet werden.

Die Konzentrationen von EDDS und DTPA in den Pflanzenproben wurden mit HPLC (High performance liquid chromatography) ermittelt. Dazu wurde das getrocknete Pflanzenmaterial in Millipur-Wasser gelöst (4 mg/4 ml) und während 30 Minuten bei 90°C erhitzt. Anschliessend wurden die Proben mit einem 0.45 µm Nylon Membranfilter filtriert.

3.6.1 EDDS

Derivatisierung von EDDS

Damit EDDS nachgewiesen werden konnte, musste es zuerst derivatisiert werden. Die dazu verwendete Methode stammt von Tandy (2005a). In einem ersten Schritt wurden 0.8 ml Pflanzenprobe mit 0.2 ml eines EDTA Puffers (0.1 M $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$, pH 11.5) gemischt und während drei Stunden bei 90° C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde dem Gemisch 1.0 ml FMOC-Reagent (15 mM 9-fluorenylmethyl chloroformat in Aceton) zugegeben und während 30 Minuten bei Zimmertemperatur zur Reaktion stehen gelassen. Anschliessend wurden 2 ml Dichlormethan hinzugefügt. Die Proben wurden geschüttelt und zentrifugiert. Die so abgetrennte wässrige Phase wurde für die Injektion in das HPLC-Gerät abpipettiert.

HPLC

Für die Chromatographie wurde ein Jasco HPLC-System, ausgestattet mit einem Fluoreszenz-Detektor (265 nm Excitation, 313 nm Emission) und einem Autosampler, verwendet. Das gewählte Phasensystem ist die „Reversed Phase-Chromatographie“, bei dem die stationäre Phase unpolar und die mobile Phase polar ist (Unger, 1989). Als stationäre Phase wurde eine „Lichrospher 100, RP-18, 5 µm“-Säule verwendet. Die mobile Phase bestand aus zwei Eluenten. Eluent A setzte sich zusammen aus 0.05 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ und 0.05 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Als Eluent B wurde Acetonitril verwendet. Der folgende Gradient in Tabelle 4 mit einer Flussrate von 1 ml/min wurde programmiert:

Tabelle 4: HPLC-Gradient für die Messung von EDDS.

Zeitraum	% Eluent B (Acetonitril)
0 – 6 Min	Von 10 % auf 20 %
6 – 8 Min	Von 20 % auf 80 %
8 – 11 Min	Stabil auf 80 %
11 – 12 Min	Von 80 % zurück auf 10 %
12 – 20 Min	Wiedereinstellung auf 10 %

Injiziert wurden jeweils 50 µl vorbereitete Pflanzenprobe. Um die EDDS-Konzentrationen aus den Peak-Flächen berechnen zu können, wurde eine Kalibrationsreihe in Wasser mit den folgenden EDDS-Konzentrationen gemessen: 0, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5 und 10 µM. Damit sowohl die Peaks bzw. deren Retentionszeit als auch die EDDS-Konzentrationen mit Sicherheit bestimmt werden konnten, wurden die einzelnen Proben vor der Derivatisierung zweigeteilt, wobei jeweils einer davon eine bestimmte Menge an zusätzlichem EDDS zugefügt wurde (sie wurden „gespiked“). Bei der Messung konnten die beiden Proben dann direkt miteinander verglichen werden.

3.6.2 DTPA

Für den Nachweis von DTPA wurde die Methode von Tandy (2005) für EDTA in Wasser modifiziert. Das Grundprinzip der Methode liegt in der Separierung des DTPA durch ein Ionenpaarreagens. Freies DTPA und DTPA-Komplexe werden in Anwesenheit von Fe(III)Cl₃ zu einem Fe(III)-Komplex umgewandelt. Fe(III)DTPA kann durch HPLC in einer Ionenaustausch-Säule unter Verwendung eines (NH₄)₂SO₄-Eluenten separiert werden.

Der Menge von 1930 µl Pflanzenprobe wurden 20 µl 2 mM Fe(III)Cl₃-Lösung zugegeben. Um das Ausfällen des Eisens zu verhindern, wurden zusätzlich 30 µl 100 mM HCl beigefügt. Auch diese Proben wurden, wie beim EDDS, gespiked. Das heisst, dem einen Probenset wurden 20 µl Wasser, dem andern 20 µl 10 µM DTPA für die Sprosse und 20 µl 100 µM DTPA für die Wurzeln addiert. Die Proben wurden gut geschüttelt und 200 µl davon wurden in das HPLC-Gerät injiziert.

HPLC

Das Jasco-HPLC-System wurde dieses Mal mit einem UV-Spektrometer ausgestattet, welches für die Detektion bei 258 nm eingestellt wurde. Als Phasensystem wurde die Anionenaustausch-Chromatographie gewählt. Hier werden geladene Substanzen getrennt. Die Verzögerung der

ionisch vorliegenden Proben kommt durch elektrostatische Wechselwirkungen mit der stationären Phase zustande (Unger, 1989). Verwendet wurde die Säule Dionex Ion Pac AS 11 (4 x 250 mm). Zur Beeinflussung der Retention in der Ionenaustausch-Chromatographie kann der pH-Wert der mobilen Phase entsprechend gewählt werden. Gemäss der Methode von Tandy (2005) für EDTA wurde für den Eluenten A eine 5 mM (NH₄)₂SO₄-Lösung mit pH 5.3 und für den Eluenten B pures Wasser angewendet. Der dazu verwendete Gradient ist in Tabelle 5 zu finden. Für die Kalibration wurden Proben mit 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 und 5 µM DTPA gemessen.

Tabelle 5: HPLC-Gradient für die Messung von DTPA.

Zeitraum	% Eluent B (Acetonitril)
0 – 10 Min	Von 100 % auf 50 %
10 – 11 Min	Stabil auf 50 %
11 – 12 Min	Von 50 % zurück auf 10 %
12 – 17 Min	Wiedereinstellung auf 100 %

3.6.3 Methodenentwicklung für EDTA und NTA

Für EDTA und NTA konnten keine HPLC-Methoden gefunden werden, welche Messungen bei genügend tiefen Konzentrationen erlaubten und keine Störpeaks lieferten. Ein Ausweichen auf die Gaschromatographie war eigentlich vorgesehen, musste aber wegen Defekts des Gerätes bei der EAWAG und wegen mangelnder Zeit gestrichen werden. Somit konnten EDTA und NTA nicht gemessen werden.

EDTA

Als erstes wurde die Methode von Nowack et al. (1996) getestet, mit welcher EDTA in Wasser bestimmt werden kann. Mit dieser Methode hätte der EDTA-Peak nach 7-8 Minuten detektiert werden sollen, er erschien jedoch viel früher. Auch Änderungen am Acetonitril-Anteil brachten kein befriedigendes Resultat. Es wurde versucht, mithilfe einer anderen Säule (PLRP-S statt LiChrospher) und verschiedener Gradienten anstelle einer konstanten Zusammensetzung der beiden Eluenten einen klaren Peak zu erhalten. PLRP-S ist eine „reversed-phase Säule“ mit sehr feinen Poren (100 Å). EDTA konnte so in grösseren Konzentrationen zwar klar identifiziert werden, es ergab sich jedoch auch beim Blank immer ein kleiner Peak, der sich genau unter jenem des EDTA befand. Für grössere Konzentrationen (>5 µM) spielt dies keine Rolle. In den Pflanzensprossen wurden jedoch Konzentrationen von weniger als 1µM erwartet. Der Versuch, Methanol anstelle von Acetonitril zu verwenden, brachte keine Verbesserung. Auch mit vorgängigem Filtrieren der Pflanzenproben mit ei-

nem Kationenaustauscher oder mit Silikagel, das apolares Material adsorbiert, konnte der Peak im Pflanzenmaterial nicht eliminiert werden. Epstein et al. (1999) beschreiben in ihrem Paper die Detektion von EDTA in Sareptasenf (*Brassica juncea*). Dem Paper ist leider weder zu entnehmen, bis zu wie tiefen Konzentrationen das EDTA nachweisbar ist, noch wie gross die Retentionszeit bis zum Erscheinen des Peaks ist. Beim Testen der Methode wurde anstelle der im Paper beschriebenen Varian-Dynamax eine LiChrosolv Säule verwendet, da die erstere nicht verfügbar war. Dasselbe gilt für das Tetrabutylammoniumhydroxid in der mobilen Phase, welches durch Tetrabutylammoniumbromid ersetzt wurde. Grössere Konzentrationen an EDTA (10 μ M) konnten zwar eindeutig identifiziert werden, kurz vor dem Peak sackte die Basislinie jedoch sowohl beim Blank als auch bei der Probe mit EDTA kurz auf ein Minimum ab, was es unmöglich machte, die genaue Fläche des Peaks zu bestimmen. Dies war umso schwieriger, je kleiner die Konzentration an EDTA war. Diese Methode konnte somit ebenfalls nicht angewendet werden.

NTA

Für den Nachweis von NTA wurden die Methoden von Nowack et al. (1996) und Tandy (2005) ausprobiert, mit welchen EDTA bzw. NTA in Wasser nachgewiesen werden können. Mit der Methode von Nowack konnte NTA auch bei Konzentrationen über 10 μ M nicht nachgewiesen werden. Bei Tandy tauchte genau unter dem Peak von NTA ein Pflanzenpeak auf, welcher eine Detektion von tieferen Konzentrationen beeinträchtigt hätte. Weitere Versuche, EDTA und NTA mit HPLC zu messen, konnten aus Zeitgründen (Umzug des ITÖ) nicht mehr durchgeführt werden.

3.7 Speziierungsrechnung

Je nach pH-Wert und Zusammensetzung der Nährlösung ist die Zinkverfügbarkeit für die Pflanzen unterschiedlich. Um eine Aussage über die Zinkaufnahme und den Einfluss der verschiedenen Komplexbildner machen zu können, wurden Speziierungsrechnungen für die Nährlösung vor und nach dem Experiment durchgeführt (für EDTA und NTA nur zu Beginn des Experiments). Die Berechnungen erfolgten mithilfe von ChemEQL V 3.0. Als Anfangswerte wurde die Zusammensetzung der Nährlösung eingegeben. Der pH-Wert wurde am Anfang und am Schluss gemessen und entsprechend ins Programm eingegeben. Für die Berechnung der Aktivitäten wurde die Daviesgleichung gewählt und ein Wert von $2.7 \cdot 10^{-3}$ für die Ionenstärke eingefügt. Die verwendeten log K-Werte (Anhang B) wurden der Arbeit von Tandy entnommen und stammen von Smith und Martell (1976), Martell et al. (2001) und Orama et al. (2002). Am Versuchsende wurden für jede einzelne Nährlösung Speziierungsrechnungen durchgeführt. Die Konzentrationen für Zink in den Nährlösungen wurden mittels AAS ermittelt, jene für die Komplexbildner wurden aus dem Totalgehalt an Komplex-

bildnern in der Pflanze und der übrig gebliebenen Nährlösung berechnet. Bei den restlichen Angaben wurden mit Ausnahme des pH die Anfangswerte übernommen.

3.8 Vorbereitung der Präparate zweiter Versuch (Mikroskopie)

Das Präparieren der Proben sowie die Arbeit am Mikroskop (Fotografieren und ein Teil der Interpretation) wurden freundlicherweise von Petra Bernasconi, Diplomandin in Umweltnaturwissenschaften an der WSL, übernommen. Die Überprüfung der Resultate und weitere Interpretationen erfolgten durch Dr. Pierre Vollenweider, Abteilung Wald und Umweltschutz, WSL. Wegen mangelnder Zeit wurde die Anzahl der Proben auf ein Minimum beschränkt.

3.8.1 Schnitte

Ausgehend von der Annahme, die Zinkkomplexe gelangten durch Lecke im Casparystreifen bei den Durchbrüchen der Seitenwurzeln durch die Endodermis, wurden die Wurzelpräparate an genau diesen Stellen geschnitten. Die Wurzelstückchen wurden zur Fixierung in einem Stück Karotte festgeklemmt und in die Halterung des Handmikrotoms gebracht. Dieses Gerät erlaubt je nach Probenmaterial das Fertigen von recht dünnen Schnitten (ca. 30 μm). Für diesen Versuch wurden 60 μm dicke Schnitte gemacht. Bei dünneren Schnitten besteht die Gefahr des Auswaschens des Zinkes während der Färbung. Dickere Schnitte setzen die Auflösung herunter, das heisst, die Details sind weniger gut erkennbar (Pierre Vollenweider, persönliche Mitteilung). Sorgfältig wurden mehrere Scheibchen Karotte mit Wurzel abgeschnitten (siehe Abbildung 5), bis die gewünschte Stelle in der Wurzel erreicht war. Die Schnitte an dieser Stelle wurden unter der Lupe auf Eignung und Unversehrtheit geprüft. Brauchbare Schnitte wurden bis zur Färbung in einer Konservierungslösung aufbewahrt. Pro Färbung wurden drei bis vier Schnitte benötigt.

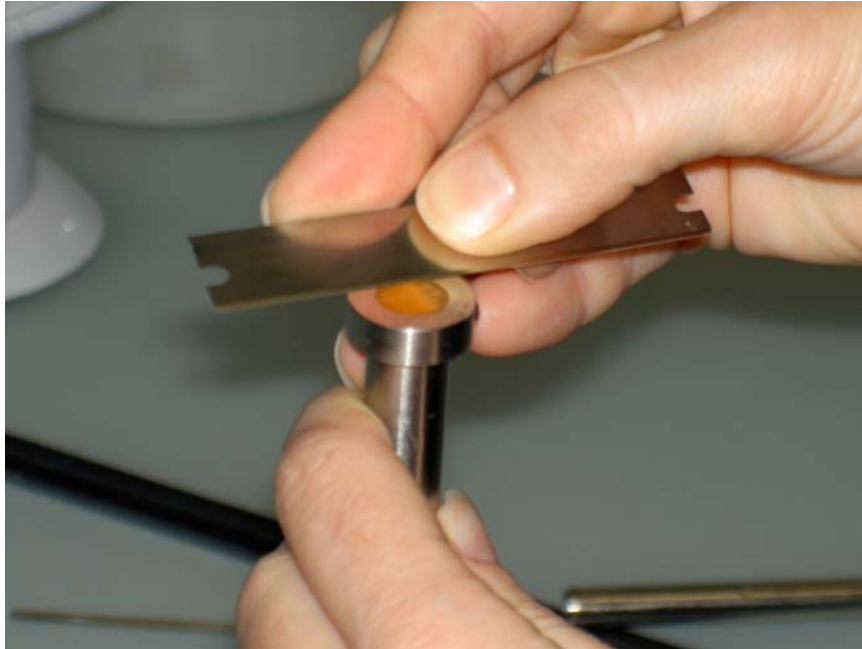


Abbildung 5: Schneiden von Wurzelscheibchen mit dem Handmikrotom.

3.8.2 Färbung

An der WSL werden laufend neue Färbemethoden für die Mikroskopierung entwickelt. Zurzeit läuft ein Projekt, bei dem unter anderem eine Zinkfärbemethode für die Mikroskopierung mit UV und eine mit Durchlicht getestet wird. Bei der UV Methode wird das Präparat von oben mit UV-Licht beleuchtet, worauf das Zink stark gelblich grün fluoresziert. Dieses Signal ist stärker als jenes mit der Durchlichtmethode, bei welchem das Präparat von unten her durchleuchtet wird und das Zink anhand von purpurroten Punktsignalen lokalisierbar ist. Der Vorteil der Durchlichtmethode gegenüber der Methode mit UV ist hingegen, dass das Gewebe der Wurzeln um einiges besser erkennbar ist, vor allem, wenn das Vorkommen von Zink in der Pflanze relativ gross ist. Diese beiden neuen Methoden wurden bis jetzt noch nicht veröffentlicht und können deshalb hier nicht genauer beschrieben werden¹.

¹ Kontaktperson: Dr. P. Vollenweider, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research (WSL), CH-8903 Birmensdorf. Tel: ++41 44 739 24 35, Fax: ++41 44 739 22 54, e-Mail: vollenwe@wsl.ch, <http://www.wsl.ch/wus/welcomed.htm>, <http://www.wsl.ch/forest/products/ozone-en/>

3.8.3 Montage

Nach dem Einfärben wurden die Schnitte sorgfältig mit Glycerin auf Glasobjektträgern eingebettet. Um das Austrocknen zu vermeiden, wurden die Deckplättchen mit Nagellack auf die Objektträger geklebt. Die Präparate wurden in einer Kartonmappe im Kühlschrank, vor Hitze und Licht geschützt, aufbewahrt. Da insbesondere die Signalwirkung der UV-Färbung rasch abnimmt, müssen die Präparate möglichst bald nach der Montage unter dem Mikroskop betrachtet, fotografiert und interpretiert werden.

3.9 Mikroskop

Die Präparate wurden mit einem Lichtmikroskop der Marke Leica Leitz DM R untersucht und mit dem digitalen Fotosystem „Micrographsystem wild M 48/52“ fotografiert. Die Optimierung der Bildausgabe erfolgte mit Image Access am Computer.

4 Resultate

4.1 Äusserliche Erscheinung der Pflanzen

Falls nicht speziell erwähnt, beziehen sich die Aussagen in diesem Kapitel auf die Pflanzen aus dem ersten Versuch. Die Ausgangslage war nicht ganz optimal, da es bereits bei Versuchsbeginn zum Teil erhebliche Grössenunterschiede zwischen den Pflanzen gab. Die kleinste Pflanze wog ca. 4.9 g, die grösste 23.9 g und der Median lag bei 11.7 g. Grund dafür waren Probleme bei der Aufzucht im Sand und die fehlende Zeit, das Ganze nach mehreren gescheiterten Versuchen ein weiteres Mal zu wiederholen. Um die Bedingungen für die verschiedenen Behandlungen ungefähr gleich zu halten, wurden jeweils eine grosse, eine mittlere und eine kleinere Sonnenblume für je eine Behandlung zusammengenommen.

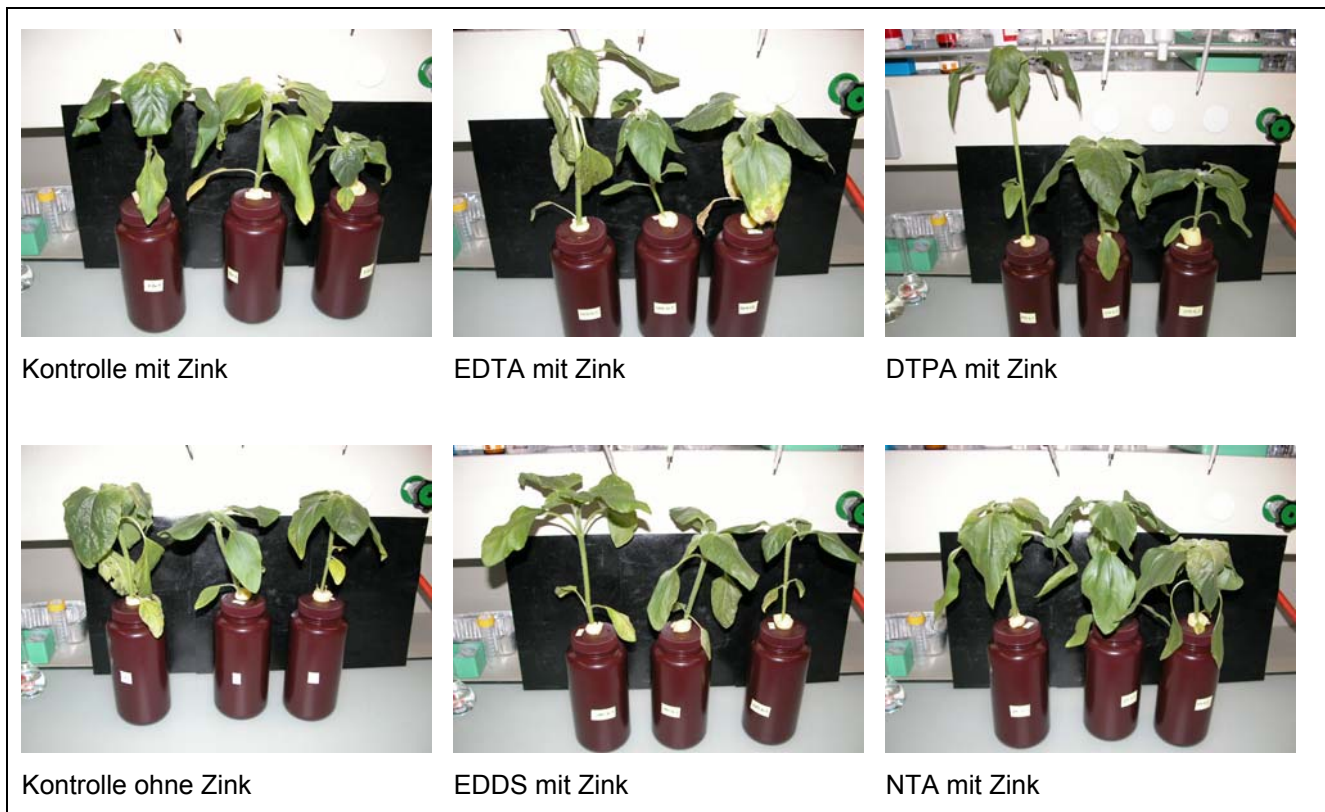


Abbildung 6: Vergleich der Sprosse aus den Behandlungen mit Komplexbildnern und Zink inklusive Kontrollpflanzen mit und ohne Zink (Pflanzen aus dem ersten Versuch).

Bei den Sprossen liessen sich keine eindeutigen Unterschiede in Farbe, Form oder Grösse feststellen, weder zwischen den Behandlungen mit und ohne Zink, noch zwischen den Behandlungen mit

den verschiedenen Komplexbildnern (Abbildung 6). Einige Pflanzen, vor allem die grösseren, wiesen bei den jüngsten Blättern leichte gelblich-braune Verfärbungen auf. Zudem waren die ältesten Blätter zum Teil abgestorben oder im Begriff dazu. Diese Erscheinungen traten allerdings bei keiner Behandlung häufiger auf als bei den andern. Die Menge an zugefügten Komplexbildnern ist wahrscheinlich zu wenig hoch, um toxische Effekte bei den Pflanzen hervorzurufen. Vassil et al. (1998) entdeckten z.B. in den Sprossen von Sareptasenf (*Brassica juncea*) erst bei Konzentrationen von über 500 μM EDTA in der Nährlösung toxische Symptome. Die beschriebenen Erscheinungen bei den Versuchspflanzen deuten in erster Linie auf einen Wassermangel und nicht auf einen Effekt durch die Komplexbildner bzw. das Zink hin. Tatsächlich vermochten einige der Versuchspflanzen während den sechs Versuchstagen bis zur Hälfte oder sogar noch mehr der Nährlösung aufzunehmen. Die Menge der Wasseraufnahme korreliert mit einem R^2 von 0.75 ziemlich klar mit der Grösse der Pflanze. Einen möglichen Beweis für einen Wassermangel liefern die Pflanzen, welche für die Mikroskopieversuche gezogen wurden. Dort wurde das Wasser täglich nachgefüllt (Nanopur), um einen Mangel möglichst zu verhindern. Diese Pflanzen zeigten weder Verfärbungen noch hatten sie abgestorbene Blätter.

Stärker sichtbar waren die Unterschiede bei den Wurzeln. Mit Komplexbildnern behandelte Pflanzen hatten tendenziell weissere Wurzeln als die andern. Am ausgeprägtesten war dies beim EDTA, gefolgt von DTPA und EDDS. Beim NTA war kein grosser Unterschied zur Kontrollpflanze festzustellen. Die mit Zink behandelten Pflanzen waren jeweils etwas dunkler (bräunlich) als jene ohne Zink, die Reihenfolge der Helligkeit blieb jedoch dieselbe. Auch der Unterschied zur Kontrollpflanze mit Zink war klar ersichtlich, da deren Wurzeln vom Zink relativ stark angegriffen wurden (Abbildung 6). Diese Wurzeln wiesen braune bis schwarze Verfärbungen auf, fühlten sich sehr weich an und liessen sich leicht zerquetschen. Nach dem Spülen und Abtrocknen klebten sie im Gegensatz zu allen andern Wurzeln aneinander. Im Gegensatz dazu waren beim zweiten Versuch die Wurzeln der Sonnenblume mit nur Zink in der Nährlösung noch intakt und wiesen im Vergleich zu den andern Behandlungen keinen Unterschied in der Wurzelbeschaffenheit auf. Die Empfindlichkeit der Wurzeln aus dem ersten Versuch wurde wahrscheinlich durch den Wassermangel massiv erhöht, so dass beide Effekte zusammen (Zinktoxizität und Wassermangel) die Wurzeln anzugreifen vermochten. Zudem wurden die Wurzeln im ersten Versuch beim Umpflanzen in die Flaschen leicht verletzt, da sie grösser waren als das Loch im Deckel. Dadurch wurden sie wahrscheinlich geschwächt und konnten leichter durch das Zink angegriffen werden. Im zweiten Versuch wurde dies verhindert, indem die Deckel schon zu einem früheren Stadium im Versuch, als die Pflanzen noch klein waren, über diese gestülpt wurden, so dass sie im Deckel wachsen konnten.



Abbildung 7: Vergleich der Wurzeln aus den Behandlungen mit Komplexbildnern und Zink inklusive Kontrollpflanze mit Zink (Pflanzen aus dem ersten Versuch).

Der Grund, weshalb Wurzeln mit Komplexbildnereinfluss heller waren, liegt wahrscheinlich darin, dass die Komplexbildner Zink und andere Metalle zu binden vermögen. Komplexbildner können dadurch eine Beeinflussung der Wurzel durch das Zink verhindern. Die Wurzeln jener Sonnenblumen, welche nur mit Zink behandelt wurden, reagierten auf dieses und zeigten stärkere Verfärbungen auf. Solche Wurzelverfärbungen durch Metallbehandlungen wurden auch bei Leguminosen festgestellt, welche $\text{Pb}(\text{NO}_3)$ ausgesetzt wurden. Es ist das Zeichen von erhöhter Suberifizierung (Piechalak et al., 2002).

Vor allem die mit NTA, aber auch die mit EDDS behandelten Pflanzen wiesen dunklere Wurzeln auf als jene mit EDTA. Der Unterschied zu jenen mit DTPA war etwas kleiner, aber immer noch sichtbar. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass die Konzentration der beiden biologisch abbaubaren Komplexbildner NTA und EDDS bereits etwas abgenommen hatte. Da die Konzentration an Zink und Komplexbildner in der Nährlösung ungefähr gleich war ($122 \mu\text{M}$ Zink und $132 \mu\text{M}$ Komplexbildner), könnte das Zink nach dem Abbau der Komplexbildner im Überschuss vorliegend gewesen sein und die Suberifizierung der Wurzeln heraufgesetzt haben. Jaworska et al. (1999) stellten fest, dass EDDS bereits nach zweieinhalb Tagen zur Hälfte abgebaut worden war. Allerdings handelte

es sich bei ihrem Medium um mit Klärschlamm versetzte Böden und nicht um phosphatfreie Nährlösungen, welche wahrscheinlich wenig Grundlage für die abbauenden Bakterien bieten. Bei einigen Pflanzen konnten im oberen Bereich der Wurzeln schwarze Verfärbungen festgestellt werden. Tendenziell nahmen diese Verfärbungen von oben nach unten ab. Der Farbunterschied zwischen dem Wurzelansatz und der Wurzelspitze war jedoch nicht bei allen Pflanzen gleich gross. Am deutlichsten war er bei den mit Zink und NTA behandelten Pflanzen. Diese Wurzeln schienen auch etwas stärker durch das Zink angegriffen als die übrigen. Die hohe Wasseraufnahme einiger Pflanzen hatte dazu geführt, dass sich die oberen Wurzelteile bei der Ernte bereits im Trockenen befanden, weshalb sie wahrscheinlich diese Verfärbungen annahmen. Solche Verfärbungen wurden bei den Pflanzenwurzeln aus dem zweiten Versuch nicht mehr festgestellt.

4.2 Pflanzentrockengewicht

Die Kontrollpflanzen mit Zink zeigten gegenüber den Kontrollpflanzen ohne Zink ein vermindertes Wurzelwachstum. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant ($p=0.23$). Bei allen andern Behandlungen war der Unterschied nur sehr gering (siehe Abbildung 8 und Daten im Anhang C und E). Desgleichen waren die Abweichungen zwischen den Behandlungen minim.

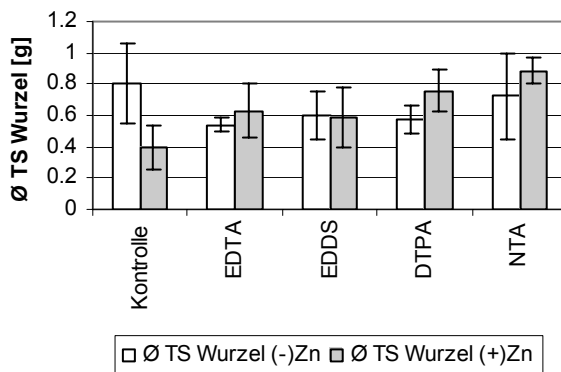


Abbildung 8: Trockengewicht der Wurzeln. Links Kontrolle und Komplexbildner ohne Zink, rechts mit Zink.

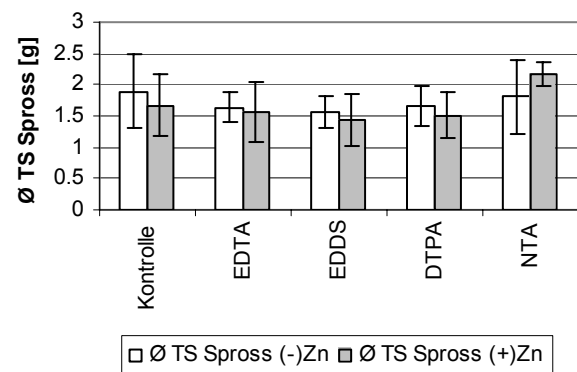


Abbildung 9: Trockengewicht der Sprosse. Links Kontrolle und Komplexbildner ohne Zink, rechts mit Zink.

Bei den Sprossen konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Alle Pflanzen aus sämtlichen Behandlungen schienen ungefähr gleich stark gewachsen bzw. gleich wenig durch das Zink und die Komplexbildner beeinträchtigt worden zu sein (Abbildung 9). Meers et al. (2005) haben in ihren Topfexperimenten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Trocken-

gewichtproduktion der Pflanzen aus den verschiedenen Behandlungen gefunden, obwohl die Konzentrationen an Zink und Komplexbildner in ihren Versuchen um einiges höher waren. Sie führen dieses Resultat hauptsächlich auf die Kürze der Behandlungsperiode von einer Woche zurück.

4.3 Speziierung der Nährflüssigkeit vor und nach dem Experiment

Die Komplexbildungskonstante von DTPA ($\log K_{Zn^{2+}} = 18.3$) ist am höchsten, gefolgt von EDTA (16.4), EDDS (13.0) und NTA (10.7). Anhand dieser und weiterer Konstanten konnte die Speziierung der Nährlösung berechnet werden (siehe auch Anhänge D und E). Bei Versuchsbeginn lag das Zink in der Nährflüssigkeit der Kontrollbehandlung mit Zink zu 96.77 % als freies Metall vor. 2.85 % war gebunden als Sulfat, 0.3 % als Nitrat und 0.08 % als Hydroxid. Hingegen war das Zink in den Behandlungen mit Zink und Komplexbildnern grösstenteils an die jeweiligen Komplexbildner gebunden. Das übrig gebliebene Zink lag vorwiegend als freies Metall vor (DTPA 0.05 %, EDDS 0.33 %, EDTA 0.20 % und NTA 1.91 %). In den Zinkbehandlungen mit EDDS, EDTA und NTA wurde das Zink zusätzlich als Sulfat gebunden (EDDS 0.01 %, EDTA 0.01 % und NTA 0.06 %). Nitratverbindungen (0.01 %) kamen nur beim NTA vor. Den Pflanzen aus der Behandlung mit NTA und Zink stand demnach am meisten freies Zink zur Verfügung, gefolgt von jenen aus der Behandlung mit EDDS und EDTA. Nur wenig freies Zink blieb jenen aus der DTPA-Behandlung. Bei Tandy war das gesamte Zink (100 %) ans EDDS komplexiert (siehe Tabelle 6). Dies ist wahrscheinlich auf die grössere Menge an Komplexbildner zurückzuführen, welche sie in die Nährlösung gab (500 μ M statt 132 μ M).

Tabelle 6: Zinkspeziiierung in den Anfangsnährlösungen aller Behandlungen.

Behandlung	Zn ²⁺ [M]	ZnL [%]
Kontrolle	9.67E-09	0.00
Kontrolle Zn	1.18E-04	0.00
EDTA	2.83E-14	100.00
EDTA Zn	2.41E-07	99.80
EDDS	1.17E-13	100.00
EDDS Zn	3.99E-07	99.66
EDDS Zn (Tandy)	3.84E-10	100.00
DTPA	2.12E-15	100.00
DTPA Zn	6.28E-08	99.95
NTA	4.17E-12	99.96
NTA Zn	2.34E-06	98.02

Tabelle 7: Komplexbildnerspeziiierung in den Anfangsnährlösungen aller Behandlungen.

Behandlung	ZnL [%]	FeL [%]	HL [%]	CaL [%]	MgL [%]
EDTA	0.01	7.57	0.01	91.34	1.07
EDTA Zn	92.24	7.58	0.00	0.19	0.00
EDDS	0.01	7.57	91.34	0.34	0.74
EDDS Zn	92.11	7.58	0.31	0.00	0.00
EDDS Zn (Tandy)	21.93	1.48	75.61	0.27	0.69
DTPA	0.01	7.57	6.56	78.33	7.53
DTPA Zn	92.37	7.58	0.00	0.04	0.00
NTA	0.01	7.82	46.00	43.31	2.86
NTA Zn	90.72	7.23	0.95	1.04	0.06

Von den Komplexbildnern waren in den Behandlungen mit Zink und Komplexbildnern bei Versuchsbeginn ca. 90 % mit dem Zink gebunden (siehe Tabelle 7). Gut 7 % komplexierten mit Eisen und die

restlichen Komplexbildner gingen mit Wasserstoff, Calcium und Magnesium Verbindungen ein. Die Werte bei Tandy weichen von diesen Resultaten ab, da sie der Nährlösung viermal mehr EDDS als Zink zufügte. Eisen steht mit Zink in Konkurrenz um die Komplexbildner. Die ca. 7 % der Komplexbildner, welche mit Eisen eine Verbindung eingingen, wurden jedoch mit dem extra dafür zugefügten Komplexbildnerüberschuss gegenüber dem Zink in der Nährlösung aufgefangen. Ohne Zink in der Lösung komplexierten EDTA und DTPA vorwiegend mit Calcium, EDDS mit Wasserstoff und NTA zu gleichen Teilen mit Calcium und Wasserstoff.

Tabelle 8: Speziierung der Komplexbildner in der Anfangsnährlösung der Behandlungen mit Zink und Komplexbildnern. Anteil einer Zink-Komplexbildner-Spezies mit bestimmter Ladung in % der Gesamtmenge des jeweiligen Zink-Komplexbildnergehalts und pH 6.

Behandlung	Ladung -3 [%]	Ladung -2 [%]	Ladung -1 [%]
EDTA	0.00 (Zn(OH)EDTA ³⁻)	99.79 (ZnEDTA ²⁻)	0.21 (ZnHEDTA ⁻)
EDTA Zn	0.00 (Zn(OH)EDTA ³⁻)	99.79 (ZnEDTA ²⁻)	0.21 (ZnHEDTA ⁻)
EDDS	0.00 (Zn(OH)EDDS ³⁻)	99.12 (ZnEDDS ²⁻)	0.88 (ZnHEDDS ⁻)
EDDS Zn	0.00 (Zn(OH)EDDS ³⁻)	99.14 (ZnEDDS ²⁻)	0.85 (ZnHEDDS ⁻)
EDDS Zn (Tandy)	0.00 (Zn(OH)EDDS ³⁻)	99.22 (ZnEDDS ²⁻)	0.78 (ZnHEDDS ⁻)
DTPA	48.40 (ZnDTPA ³⁻)	51.60 (ZnHDTPA ²⁻)	0.00 -
DTPA Zn	48.97 (ZnDTPA ³⁻)	51.03 (ZnHDTPA ²⁻)	0.00 -
NTA	0.00 -	0.04 (Zn(OH)NTA ²⁻)	99.96 (ZnNTA ⁻)
NTA Zn	0.00 -	0.04 (Zn(OH)NTA ²⁻)	99.96 (ZnNTA ⁻)

Metallkomplexe weisen je nach Komplexbildner und pH unterschiedliche Ladungen auf. In der Nährlösung lagen die Komplexbildner in diversen Spezies vor, deren Anteile je nach pH und Gehalt an andern Ionen variierten. Bei der ausschliesslichen Betrachtung derjenigen Verbindungen, welche die Komplexbildner mit dem Zink eingingen, kam Zink-EDTA in der Anfangsnährlösung vorwiegend als ZnEDTA²⁻ vor, also mit der negativen Ladung von 2 (Tabelle 8). Beim Zink-DTPA lag die eine Hälfte mit Ladung -3 vor, während die andere als ZnHDTPA²⁻ gebunden war. Zink-EDDS lag hauptsächlich als ZnEDDS²⁻ vor (auch bei Tandy) und Zink-NTA mit der Ladung -1. Mit der Annahme, komplexiertes Zink könnte aufgenommen werden, jedoch umso weniger, je grösser die negative Ladung des Komplexes ist, würde in der Behandlung mit NTA am meisten Zink aufgenommen, gefolgt von jenen mit EDTA und EDDS und am wenigsten bei der Behandlung mit DTPA.

Die Nährlösungen der Kontrollpflanzen mit Zink zeigten bei Versuchsende keine nennenswerten Unterschiede gegenüber dem Versuchsbeginn (siehe Tabelle 9). Es wurden immer noch gut 96 % freies Zink in der Lösung berechnet. Bei den Behandlungen mit Komplexbildnern und Zink verän-

derte sich das Resultat dahingehend, dass noch mehr Zink komplexiert war als am Anfang (DTPA 100 % statt 99.95 % und EDDS 99.98 statt 99.66 %).

Tabelle 9: Zinkspeziiierung in den Endnährlösungen der Kontrollbehandlung und der Behandlungen mit EDDS und DTPA jeweils mit und ohne Zink.

Behandlung	Zn ²⁺ [M]	ZnL [%]
Kontrolle	1.19E-07	0.00
Kontrolle Zn	5.11E-05	0.00
EDDS	1.85E-11	99.97
EDDS Zn	1.25E-08	99.98
DTPA	1.40E-13	100.00
DTPA Zn	7.16E-11	100.00

Obwohl die Nährlösungen am Schluss des Experiments pH-Werte zwischen 4.61 und 6.43 aufwiesen, schien dies nur einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Speziierung des Zinks zu haben. Die starke pH-Absenkung in einigen Nährlösungen könnte auf einen Mangel der Pflanzen hinweisen. Wurzeln mit Eisenmangel scheiden beispielsweise Protonen aus, um den Boden bzw. die externe Lösung saurer zu machen. Dies führt zu einer erhöhten Mobilisierung und Aufnahme von Eisen (Marschner, 1996). Der tiefe pH-Wert vermochte die Zinkaufnahme jedoch nicht zu beeinflussen. Zwischen dem pH-Wert am Versuchsende und der gesamten Aufnahme von Zink durch die jeweiligen Pflanzen wurde kein Zusammenhang gefunden.

Grössere Unterschiede konnten in den Anfangs- und Schlusswerten der Speziierung der Komplexbildner festgestellt werden. Dies hängt wahrscheinlich mit der Menge an verfügbarem Zink zusammen. Je mehr Zink eine Pflanze aufgenommen hatte, desto weniger blieb davon in der Nährlösung verfügbar und entsprechend kleiner war der Prozentsatz an Komplexbildnern, welche sich mit Zink verbinden konnten.

4.4 Zinkgehalt in den Pflanzen

Zink gehört zu den essentiellen Mikronährstoffen, welche die Pflanze für ihr Wachstum benötigt. Bei der Aufzucht der Versuchspflanzen durfte Zink deshalb nicht fehlen. Die verwendete Hoaglandnährlösung enthielt 0.2 µM Zink. Dies liess sich als Hintergrundkonzentration in denjenigen Pflanzen messen, welchen während dem sechstägigen Experiment kein weiteres Zink mehr zugefügt wurde. Die Hintergrundkonzentration bewegte sich bei den Wurzeln im Bereich von 336 – 712 µmol/kg und bei den Sprossen zwischen 231 und 598 µmol/kg. Bei den Resultaten der Pflanzen, welche wäh-

rend dem Experiment dem zusätzlichen Zink ausgesetzt waren, wurde der Durchschnittswert der Kontrollpflanzen ohne Zink (547 $\mu\text{mol/kg}$ bei den Wurzeln und 496 $\mu\text{mol/kg}$ bei den Sprossen) als Hintergrundbelastung abgezogen. In Abbildung 10 und Abbildung 11 sind die Zinkgehalte jener Wurzeln und Sprosse ablesbar, welche während dem Experiment dem Zink und den Komplexbildnern ausgesetzt waren.

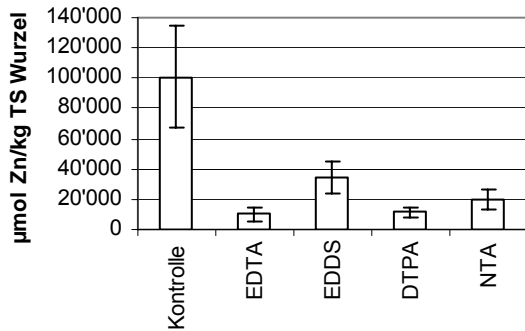


Abbildung 10: Zinkaufnahme der Wurzeln der mit Zink und Komplexbildnern behandelten Pflanzen.

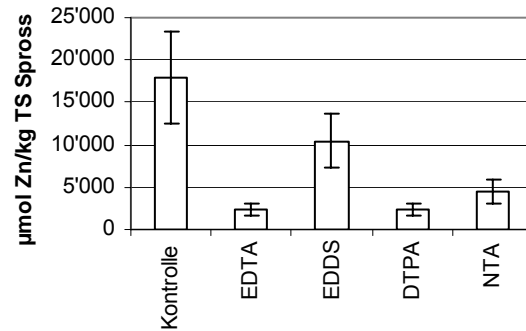


Abbildung 11: Zinkaufnahme der Sprosse der mit Zink und Komplexbildnern behandelten Pflanzen.

Am meisten Zink aufgenommen haben die Kontrollpflanzen (durchschnittliche Werte bei den Wurzeln sind 101'420 $\mu\text{mol/kg}$ TS bei den Sprossen 18'417 $\mu\text{mol/kg}$ TS), gefolgt von jenen mit den biologisch abbaubaren Komplexbildnern EDDS und NTA. Werden die mit Komplexbildnern behandelten Pflanzen miteinander verglichen, so ist die Zinkaufnahme der EDDS-Pflanze am höchsten, gefolgt von NTA und EDTA. Im Vergleich zur Äusseren Erscheinung der Wurzeln, wo beim NTA wegen der stärkeren Verfärbung eine höhere Zinkaufnahme vermutet werden kann als beim EDDS, ist die Zinkaufnahme der Pflanze mit EDDS in der Wurzel mit einem P-Wert von 0.097 leicht (possibly significant) und im Spross deutlich ($P = 0.011$) höher als beim NTA. Die genauen Daten zum Zinkgehalt befinden sich in den Anhängen C und E.

Der Vergleich mit den Resultaten von Tandy zeigt bei der Kontrollpflanze mit Zink keine Unterschiede. Sowohl die Werte für die Wurzeln (100'693 $\mu\text{mol/kg}$ TS), als auch jene für die Sprosse (14'695 $\mu\text{mol/kg}$ TS) stimmen ziemlich genau überein. Erstaunlich ist jedoch, dass ihre Kontrollpflanzen ohne Zink (Wurzeln 1'293 $\mu\text{mol/kg}$ TS, Spross 1'429 $\mu\text{mol/kg}$ TS) eine etwa dreimal höhere Zinkkonzentration aufweisen als jene aus diesem Versuch. Offenbar hatten ihre Pflanzen bereits vor dem Versuchsbeginn mehr Zink aufgenommen. Bei der Berechnung der Zinkaufnahme während des Experiments wurde der Wert der Kontrollpflanzen ohne Zink als Anfangswert (vorexperimentelle Zinkkonzentration) abgezogen. Dies verkleinerte die Werte der experimentalen Zinkaufnahme von Tandy's Pflanzen stärker als jene aus dieser Arbeit. Da die Pflanze Zink benötigt, besitzt

sie Mechanismen zu dessen aktiver Aufnahme. Die erhöhte vorexperimentelle Zinkaufnahme von Tandy's Pflanzen könnte dazu geführt haben, dass die Pflanzen während dem Experiment nicht mehr so viel Zink benötigten und deshalb auch weniger aufnahmen. Die Resultate der Behandlung mit Zink und EDDS weichen stark von jenen von Tandy ab. Die Akkumulationsraten von Tandy's Pflanzen waren in den Wurzeln um den Faktor 25 und in den Sprossen um den Faktor vier kleiner, wenn die vorexperimentelle Zinkkonzentration nicht abgezogen wurde (mit Abzug wäre der Faktor ca. 20). Der Faktor vier könnte damit erklärt werden, dass Tandy vier Mal mehr EDDS (500 μM statt 132 μM) einsetzte.

Ein klares Bild ergibt die Gegenüberstellung des freien Zinks in der Nährlösung und der Zinkkonzentration im Spross (Abbildung 12). Die geringste Zinkaufnahme ist bei Tandy's mit EDDS und Zink behandelten Pflanzen festzustellen (Punkt links unten) im Mittelfeld befinden sich die mit Komplexbildnern und Zink behandelten Pflanzen aus unseren Versuchen und oben rechts liegt der Punkt für die Kontrollpflanze mit Zink. Je mehr freies Zink der Pflanze also zur Verfügung steht, desto grösser ist die Aufnahme in den Spross.

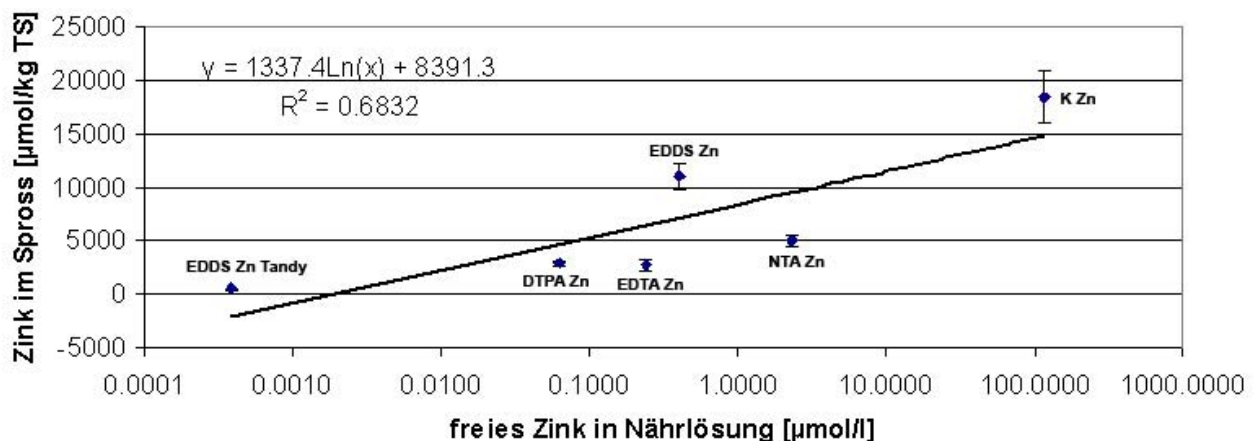


Abbildung 12: Freies Zink in der Nährlösung vs. Zink im Spross. Alle Pflanzen aus den Behandlungen mit Zink und Komplexbildnern inkl. des Wertes EDDS Zn von Tandy.

4.5 Komplexbildnergehalt

Wie bereits erwähnt, konnten nur die Komplexbildner EDDS und DTPA gemessen werden (siehe Anhänge C und E für die genauen Werte). Bei der Behandlung mit EDDS ohne Zink wurde in den Wurzeln eine 20-mal höhere Komplexbildnerkonzentration gemessen als im Spross. In der Behandlung mit EDDS und Zink war der Überschuss in der Wurzel nur noch viermal höher. Die Anwesenheit von Zink scheint die Aufnahme von EDDS in den Spross positiv zu beeinflussen. Während in der Behandlung mit Komplexbildnern ohne Zink die durchschnittliche EDDS-Konzentration im Spross bei ca. 150 $\mu\text{mol/kg TS}$ liegt, ist jene der Behandlung mit Komplexbildnern und Zink mit 435 $\mu\text{mol/kg TS}$ ca. 3-mal grösser. Bei den Wurzeln ist dieser Trend nicht festzustellen (siehe Abbildung 13 und Abbildung 14). Diese Resultate entsprechen ungefähr jenen von Tandy, obwohl sie der Nährlösung ca. viermal mehr EDDS beifügte (Wurzel: EDDS 3'606 $\mu\text{mol/kg TS}$, EDDSZn 2'916 $\mu\text{mol/kg TS}$; Spross: EDDS 147 $\mu\text{mol/kg TS}$, EDDSZn 342 $\mu\text{mol/kg TS}$). Auch bei ihr nahmen die Pflanzen in Gegenwart von Zink mehr EDDS auf als in der Behandlung ohne Zink.

Die Konzentrationen des DTPA waren in der Wurzel im Durchschnitt 23-mal (Behandlung mit nur DTPA) und 18-mal (Behandlung mit DTPA und Zink) grösser als im Spross. Ein so grosser Unterschied zwischen der Behandlung mit Komplexbildner ohne Zink und jener mit Komplexbildner und Zink, wie er beim EDDS auftrat, war beim DTPA nicht festzustellen. Das Zink schien hier die Aufnahme des Komplexbildners in den Spross nicht zu beeinflussen.

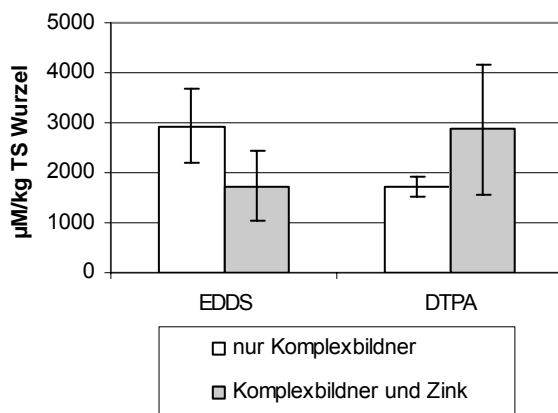


Abbildung 13: Vergleich des Komplexbildnergehalts in den Wurzeln der Behandlungen mit Komplexbildner, mit (rechter Balken) und ohne Zink (linker Balken).

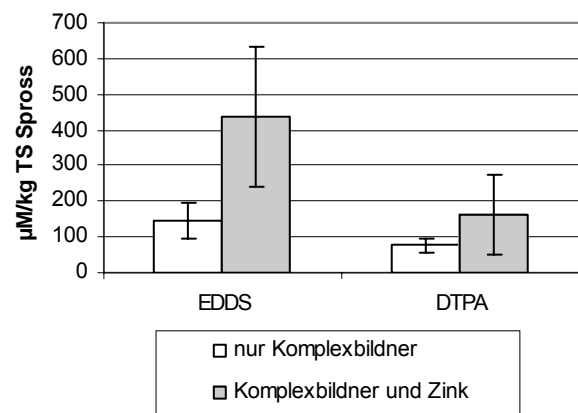


Abbildung 14: Vergleich des Komplexbildnergehalts in den Sprossen der Behandlungen mit Komplexbildner, mit (rechter Balken) und ohne Zink (linker Balken).

Im direkten Vergleich der beiden Komplexbildner war in den Wurzeln kein signifikanter Unterschied festzustellen ($P = 0.6$). Auch wenn die Resultate der Sprosse leicht unterschiedlich aussehen, eine Signifikanz konnte auch hier nicht ermittelt werden ($P = 0.3$).

4.6 Komplexbildner vs. Zink

Das Aufnahmeverhältnis zwischen Zink und Komplexbildnern liegt beim EDDS sowohl in den Wurzeln wie auch im Spross ungefähr bei 20 zu 1 (siehe Abbildung 15 und Abbildung 16). Dies ganz im Gegensatz zu den Resultaten von Tandy. Sie hatte im Spross ungefähr gleich hohe Konzentrationen an Zink und EDDS erhalten. Der Unterschied liegt in der tieferen Zinkaufnahme ihrer Versuchspflanzen. Bei den mit DTPA behandelten Pflanzen (Abbildung 15 und Abbildung 16) sind die Zinkwerte in den Wurzeln nur gerade zehnmal grösser als jene von DTPA selbst. In den Sprossen variieren sie zwischen 7 und 700-mal. Die Pflanzen scheinen vorwiegend unkomplexiertes Zink aufzunehmen.

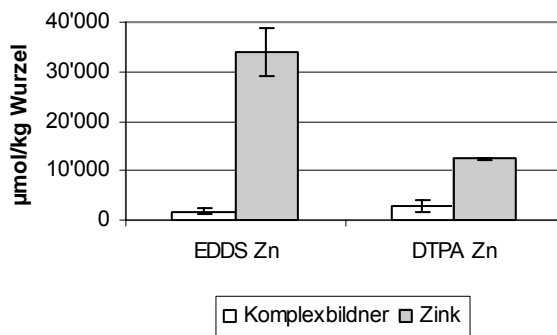


Abbildung 15: Vergleich des Zink- und Komplexbildnergehalts in den Wurzeln. Behandlungen mit Zink und Komplexbildnern.

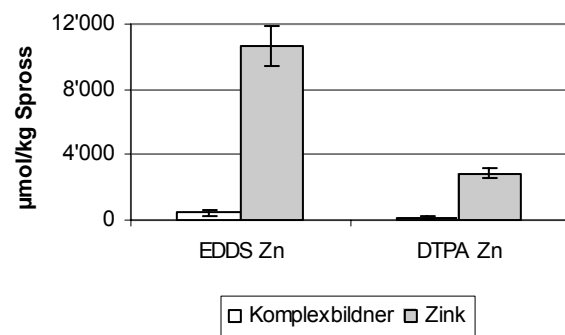


Abbildung 16: Vergleich des Zink- und Komplexbildnergehalts im Spross. Behandlungen mit Zink und Komplexbildnern.

In den Wurzeln ist sowohl beim EDDS (Abbildung 17) als auch beim DTPA (Abbildung 19) ein Trend in Richtung „je mehr Komplexbildner desto mehr Zink“ feststellbar. Die Verteilung der Datenpunkte beim DTPA ist jedoch etwas einseitig und deren Interpretation deshalb mit Vorsicht zu geniessen. Bei den Sprossen kann für das EDDS überhaupt kein Zusammenhang zwischen Zink und Komplexbildneraufnahme gefunden werden (Abbildung 18). Im Gegensatz dazu scheinen beim DTPA (Abbildung 20) die Komplexbildner- und die Zink-Aufnahme mehr oder weniger zu korrelieren ($R^2 = 0.8974$).

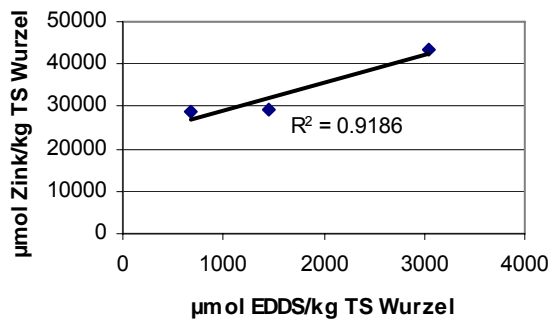


Abbildung 17: Gehalt von EDDS vs. Gehalt von Zink in den Wurzeln der drei mit EDDS und Zink behandelten Versuchspflanzen.

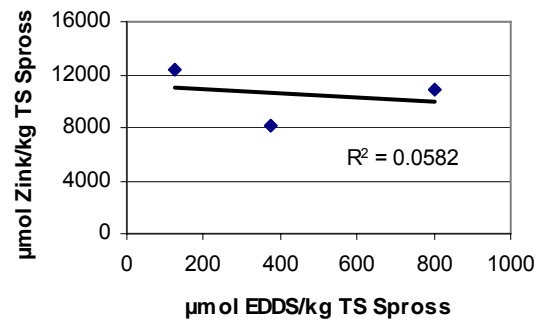


Abbildung 18: Gehalt von EDDS vs. Gehalt von Zink im Spross der drei mit EDDS und Zink behandelten Versuchspflanzen.

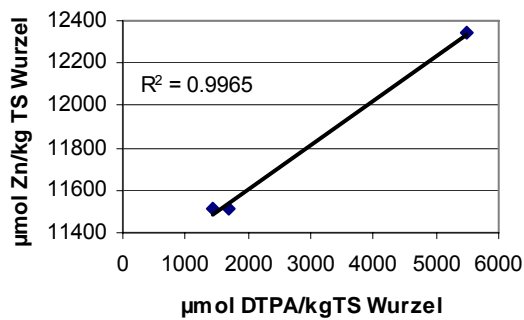


Abbildung 19: Gehalt von DTPA vs. Gehalt von Zink in den Wurzeln der jeweiligen Versuchspflanzen.

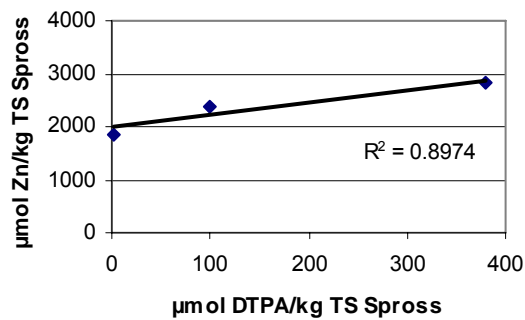


Abbildung 20: Gehalt von DTPA vs. Gehalt von Zink im Spross der jeweiligen Versuchspflanzen.

4.7 Mikroskopie

Zur Identifikation der verschiedenen Gewebe eignete sich die Durchlichtmethode besser als die UV-Methode. Es liessen sich jedoch mit dieser Methode nicht alle Gewebetypen gleich gut erkennen. Folgende Gewebe konnten unterschieden werden: Exodermis, Kortex, Endodermis mit Casparystreifen, Perizykel, Phloem, Kambium und Xylem. In Abbildung 21 sind einige dieser Gewebe visualisiert. Auf diesem Foto ebenfalls sichtbar sind Lakunen (Aërenchyme). Dies ist ein Durchlüftungsgewebe, welches normalerweise die Wurzeln von Wasserpflanzen durchzieht und diese mit Sauerstoff versorgt (Lüttge et al., 2002). Sonnenblumen sind bekanntlich keine Wasserpflanzen, weshalb Lakunen für sie unüblich sind. Da sie jedoch in Nährlösungen aufgezogen wurden, haben sie ebenfalls Lakunen gebildet (Pierre Vollenweider, persönliche Mitteilung).

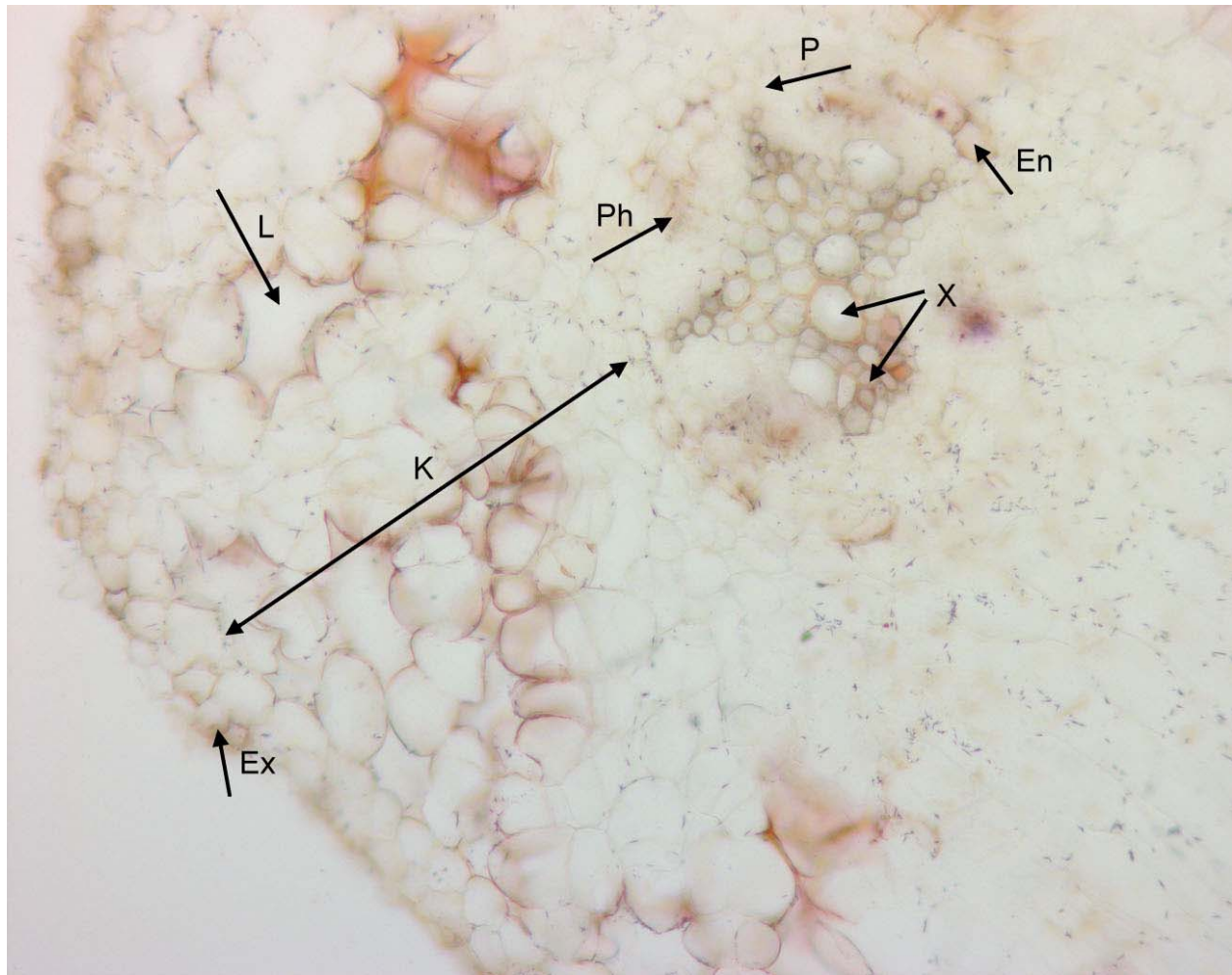


Abbildung 21: Wurzelquerschnitt einer mit Zink behandelten Sonnenblume, gefärbt für Durchlicht.
Ex = Exodermis, K = Kortex, En = Endodermis, P = Perizykel, Ph = Phloem, X = Xylem, L = Lakunen.

Der Zinkgehalt der verschiedenen Gewebe wurde auf einer Skala von „null“ bis „drei“ bewertet. Null bzw. „-“ bedeutet „kein Zink nachgewiesen“, „+“ steht für wenig Zink, „++“ für mässig und „+++“ für viel Zink. Dies ist die an der WSL üblicherweise verwendete Bewertungsmethode. Sie erlaubt einen groben Vergleich der zu untersuchenden Pflanzen innerhalb eines Versuches wie auch der Resultate verschiedener Projekte. Die Resultate aus der Methode mit UV-Licht sind der Tabelle 10 zu entnehmen, jene der Durchlicht-Methode befinden sich in Tabelle 11.

Tabelle 10: Beurteilung des Zinkgehalts in den verschiedenen Geweben der Sonnenblumen. Resultate aus der Zinkfärbemethode für die Mikroskopierung mit UV.

Probe	Exoderm/Rhizoderm		Kortex		Endodermis		Perizykel		Phloem		Kambium		Xylem	
	sym	apo	sym	apo	sym	apo	sym	apo	sym	apo	sym	apo	sym	apo
EDDS Zn 1	++	-	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
EDDS Zn 2	++	-	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
EDDS Zn 3	++	-	+++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
NTA Zn 1	++	-	+++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
NTA Zn 2	+	+	+++	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
NTA Zn 3	+	-	+++	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+
DTPA Zn 1	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
DTPA Zn 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DTPA Zn 3	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
DTPA Zn 4	+	+	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
EDTA Zn 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EDTA Zn 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EDTA Zn 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Kontrolle 1	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Kontrolle 2	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Kontrolle 3	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Zink 1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	+++
Zink 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	+++
Zink 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	+++
Zink 4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	+++

Legende: - = kein Zn
+ = wenig Zn
++ = mässig Zn
+++ = viel Zn
apo = apoplastisch
sym = symplastisch

Die betrachteten Gewebe zeigten unter dem UV-Licht unterschiedlich starke Eigenfluoreszenz. Am stärksten leuchtete das Xylem (siehe Abbildung 22 bis Abbildung 27). Im Allgemeinen sendeten die Zellwände ein stärkeres Signal aus als die Zellinhalte. Zum Teil konnten die Zellkerne erkannt werden. Auf wenigen Präparaten waren blau oder rot leuchtende Punkte zu finden (siehe z.B. Abbildung 27). Dabei handelt es sich nicht um Zink, sondern um Kontaminationen.

Mithilfe der UV-Färbemethode konnte bei der Kontrollpflanze lediglich im Symplasten der Exodermis und des Phloems ein wenig Zink nachgewiesen werden (siehe Abbildung 22). Dieses Zink stammt aus der vorexperimentellen Pflanzenaufzucht.



Abbildung 22: Wurzelquerschnitt der Kontrollpflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit UV.

In der nur mit Zink behandelten Pflanze (Abbildung 23 A und B) wurde im Kambium mässig und im Rest der Wurzel überall viel Zink angezeigt. Die Verteilung war relativ homogen, sowohl in den Geweben ausserhalb, wie auch in jenen innerhalb der Endodermis. Die Pflanze hat das Zink aktiv aufgenommen und überall in ihren Geweben eingebaut oder abgelagert.

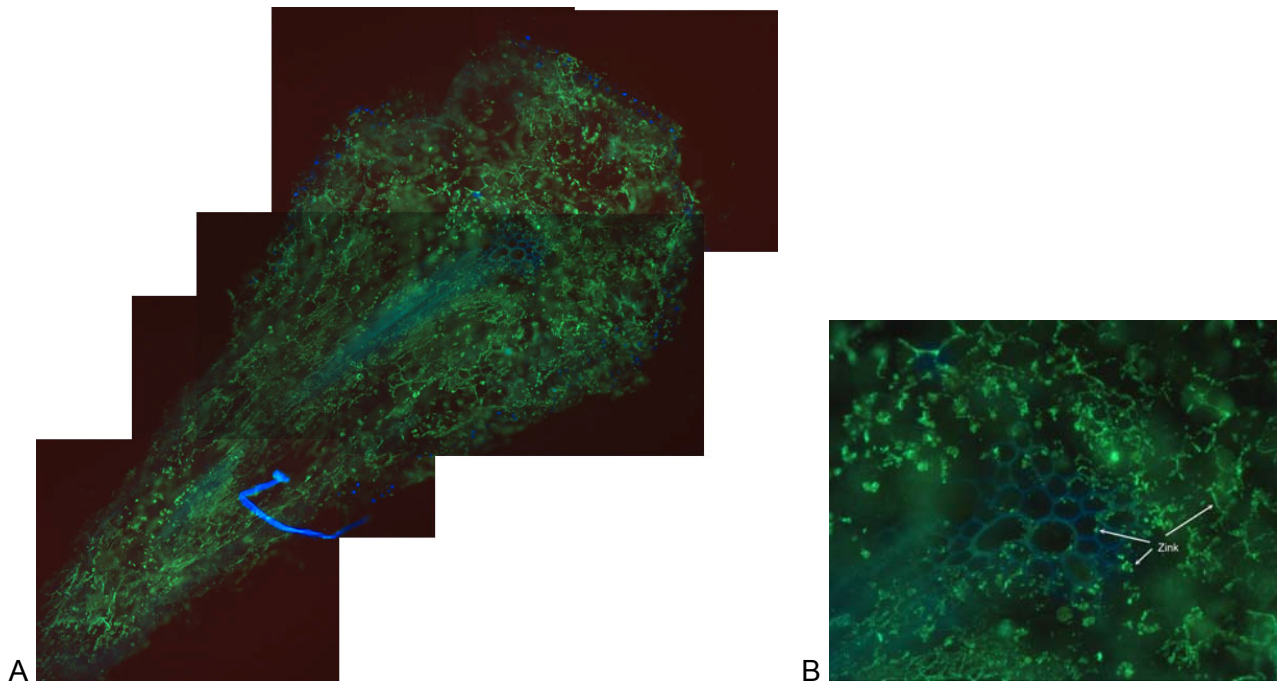


Abbildung 23 A und B: Wurzelquerschnitt der nur mit Zink behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit UV. A zeigt den gesamten Querschnitt, B das Xylem und umliegendes Gewebe. Die grün leuchtenden Punkte signalisieren das Zink.

Bei den mit Zink und Komplexbildnern behandelten Pflanzen konnten mit dieser Methode in der Exodermis und im Kortex mehr Zink nachgewiesen werden als in den Geweben innerhalb der Endodermis, wo wenig bis kein Zink vorhanden war. Die grösste Menge an Zink (+++) wurde in der mit NTA behandelten Pflanze im Symplast des Kortex gefunden. In diesen Präparaten gab es zudem ein mässiges Signal für Zink im Symplast der Exodermis und eines für wenig Zink in deren Apoplast. Wenig Zink wurden im Symplast der Endodermis, des Phloem des Kambiums, sowie im Apoplast des Xylems gefunden. Zink lagerte sich zum Teil im Innern der Zellen an die Wände, so dass der Eindruck entstehen konnte, es befinde sich im Apoplasten (Abbildung 24). Es handelte sich jedoch um Zinksignale aus dem Symplasten (Pierre Vollenweider, mündliche Mitteilung).

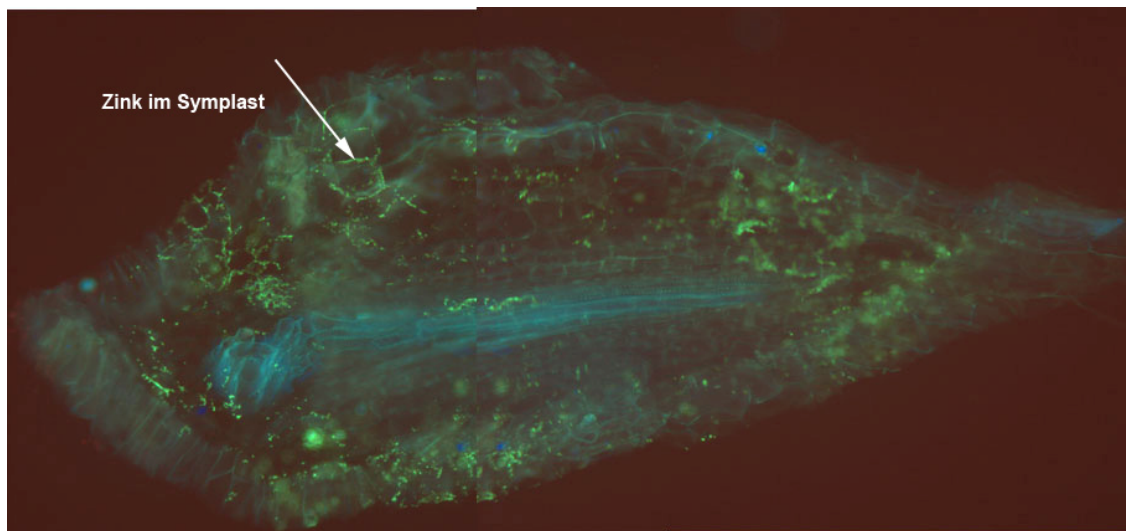


Abbildung 24: Wurzelquerschnitt der mit Zink und NTA behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit UV. Die grün leuchtenden Stellen signalisieren das Zink.

Ebenfalls mässig bis viel Zink enthielt der Symplast der Exodermis der mit Zink und EDDS behandelten Sonnenblume. Hier war auch im Symplast des Kortex noch mässig Zink anzutreffen und ein wenig im Symplasten der Endodermis. In den Geweben innerhalb der Endodermis war das Zink nur noch im Apoplast des Xylem vorhanden (Abbildung 25 A und B).

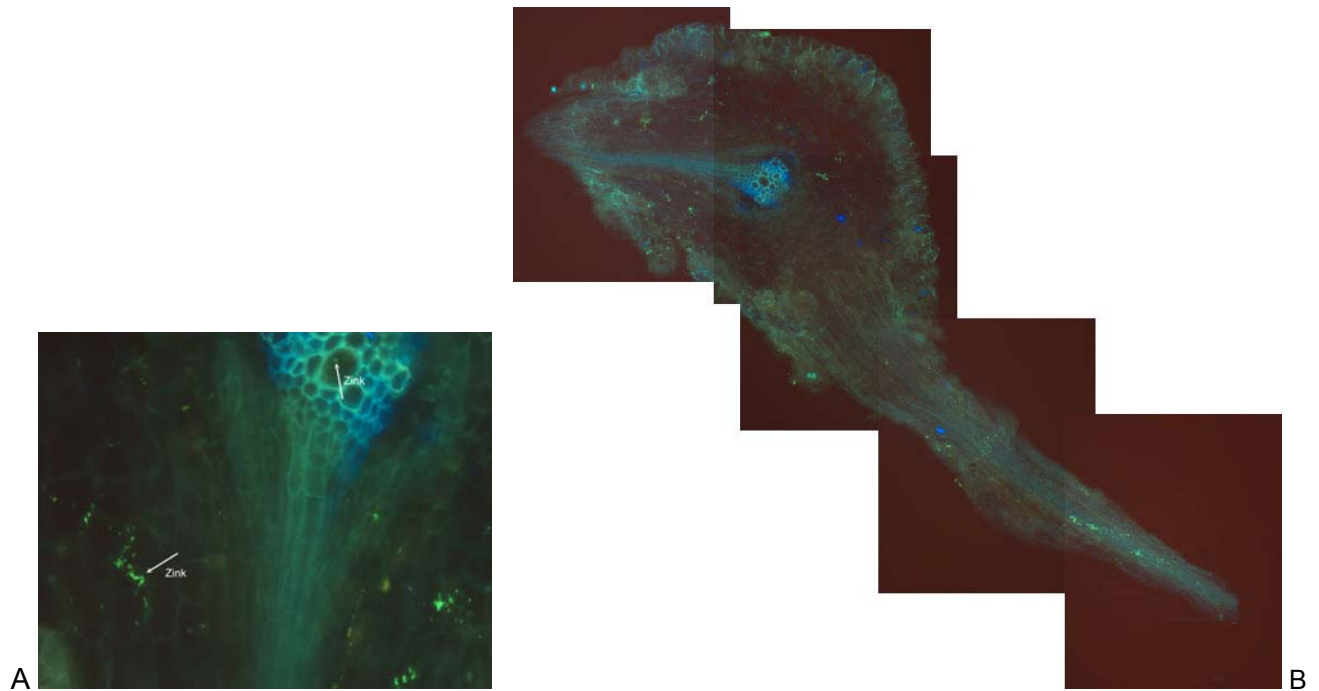


Abbildung 25 A und B: Wurzelquerschnitt der mit Zink und EDDS behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit UV.

Etwas schwächer fielen die Signale für Zink in der mit DTPA und Zink behandelten Pflanze aus. Nur wenig Zink konnte im Kortex, im Exoderm, im Phloem und im Xylem (im Symplasten) nachgewiesen werden (Abbildung 26).

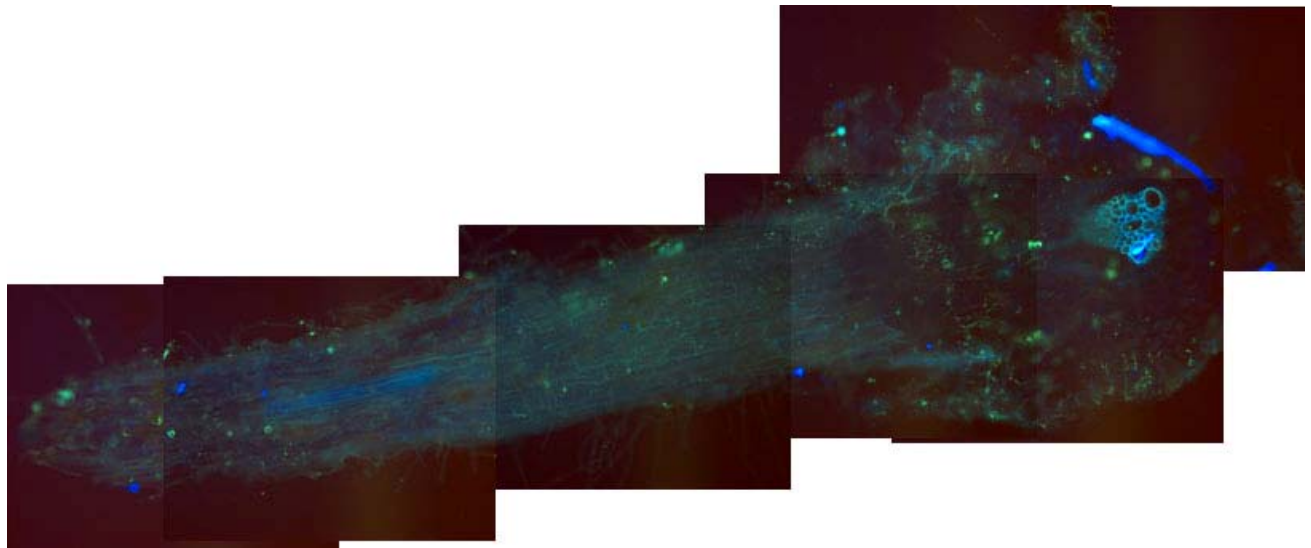


Abbildung 26: Wurzelquerschnitt der mit Zink und DTPA behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit UV.

Bei der EDTA-behandelten Sonnenblume erschien lediglich im Apoplast des Xylem ein kleines Zink-Signal. Im Rest des Präparates konnte nichts gefunden werden (Abbildung 27).

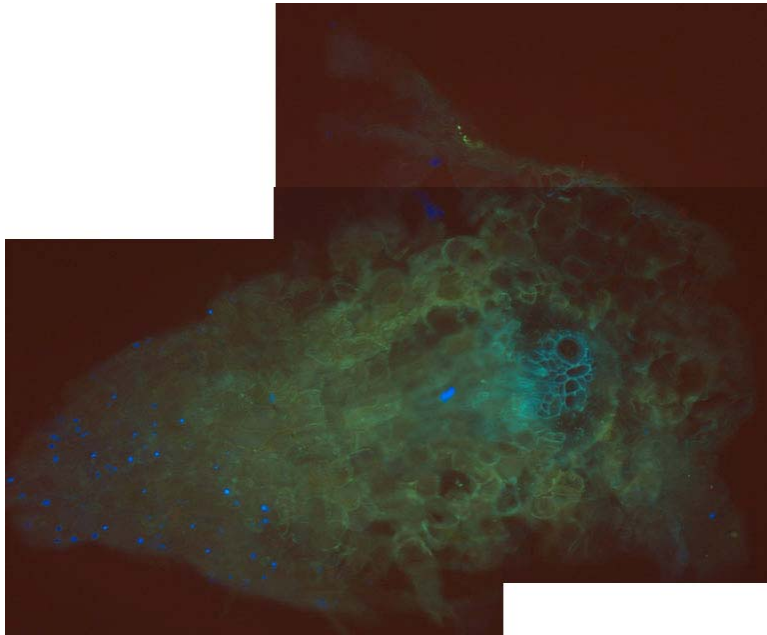


Abbildung 27: Wurzelquerschnitt der mit Zink und EDTA behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit UV.

Die Verteilung des Zinks innerhalb der verschiedenen Gewebe zeigte keine Besonderheiten. Es gab weder spezielle Anhäufungen an den Übergängen von einem Gewebe in ein anderes noch waren linienförmige Aneinanderreihungen von Zinksignalen auszumachen. Bei dieser Art Färbung ist die Erkennung des Gewebes relativ schwierig. Leckstellen in der Endodermis und somit im Casparystreifen sind nicht erkennbar. Es deutet also nichts auf einen bevorzugten Weg der Zinkkomplexe vom Kortex durch die Endodermis in die Leitbündel hin.

Obwohl den Pflanzen äußerlich nichts angesehen werden konnte, schienen sowohl NTA als auch DTPA einen negativen Einfluss auf das Pflanzengewebe zu haben. Im Kortex dieser Präparate waren geschrumpfte Zellen erkennbar, welche durch Plasmalyse der Zellen entstanden waren (Pierre Vollenweider, persönliche Mitteilung). Leider war dies auf den erstellten Fotos nicht genügend klar ersichtlich, dass es hier gezeigt werden könnte.

Tabelle 11: Beurteilung des Zinkgehalts in den verschiedenen Geweben der Sonnenblumen. Resultate aus der Zinkfärbemethode für die Mikroskopierung mit Durchlicht.

Probe	Exoderm/Rhizoderm		Kortex		Endodermis		Perizykel		Phloem		Kambium		Xylem	
	sym	apo	sym	apo	sym	apo	sym	apo	sym	apo	sym	apo	sym	apo
EDDS Zn 1	++	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
EDDS Zn 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EDDS Zn 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
NTA Zn 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NTA Zn 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NTA Zn 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DTPA Zn 1	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DTPA Zn 2	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DTPA Zn 3	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DTPA Zn 4	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EDTA Zn 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EDTA Zn 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EDTA Zn 3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kontrolle 1	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+
Kontrolle 2	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Kontrolle 3	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Zink 1	-	-	-	++	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+
Zink 2	+	-	++	+	++	-	-	-	+	-	+	-	-	+
Zink 3	+	-	+	+	++	-	-	-	+	-	+	-	-	+
Zink 4	+	-	+	++	++	+	-	-	+	-	+	-	-	+

Legende: - = kein Zn apo = apoplastisch
 + = wenig Zn sym = symplastisch
 ++ = mässig Zn
 +++ = viel Zn

Die Zinkfärbemethode für Durchlicht zeigte, wie bereits erwähnt, ein etwas schwächeres Zinksignal als jene mit UV. Dementsprechend waren die Zinkwerte bei der Durchlichtmethode meist etwas kleiner (siehe Tabelle 11 und Abbildung 28). In der Kontrollpflanze liess sich im Symplast aller Gewebe ausser dem Xylem ein wenig Zink nachweisen. Im Xylem befand sich wenig Zink im Apoplast (Abbildung 29).

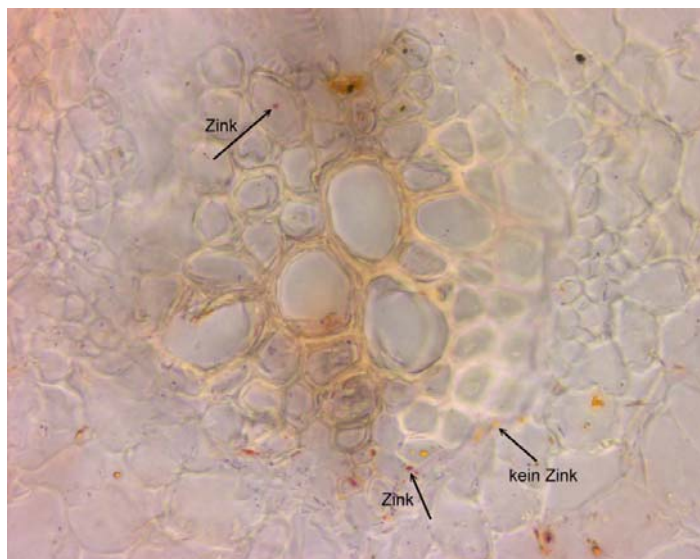


Abbildung 28: Zinksignale bei der Durchlichtmethode. Wurzelquerschnitt der mit Zink und EDDS behandelten Sonnenblume.

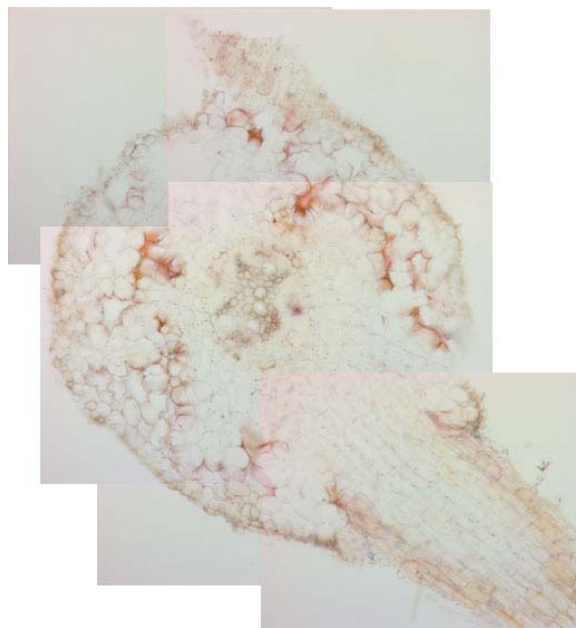


Abbildung 29: Wurzelquerschnitt der mit nur Zink behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit Durchlicht.

Die nur mit Zink behandelte Sonnenblume enthielt im Kortex sowohl im Symplast als auch im Apoplast mässig Zink. Wenig Zink befand sich im Apoplast der Exodermis, mässig im Symplast der Endodermis und wenig in deren Apoplast. In den Geweben innerhalb der Endodermis konnte wenig Zink im Symplast des Phloem und im Apoplast des Xylem entdeckt werden. Es konnte also mehr oder weniger über den gesamten Wurzelquerschnitt Zink nachgewiesen werden. Zink wurde also durch den Casparystreifen nicht davon abgehalten, vom Mantel in den Zentralzylinder einzudringen. Im Kortex der mit Zink behandelten Kontrollpflanze haben sich grosse, sternförmige, rotbraune Flecken gebildet (siehe

Abbildung 29). Bei diesen Flecken handelt es sich um oxidierte Polyphenole, welche auf eine Abwehrreaktion der Wurzel hindeuten (Pierre Vollenweider, persönliche Mitteilung). In den mit Zink und Komplexbildnern behandelten Pflanzen wurden mit der Durchlichtmethode nur sehr spärliche Zinksignale detektiert. Die Pflanze mit DTPA (Abbildung 30) wies nur wenig Zink im Symplast des Kortex und im Sym- und Apoplast Exodermis auf. In der Endodermis und den Geweben innerhalb von ihr wurde kein Zink signalisiert. Bei der mit NTA (Abbildung 31) behandelten Pflanze war gar kein Zinksignal sichtbar. Dasselbe gilt für jene mit EDTA (Abbildung 33), wobei diese Resultate wegen erhöhten Labortemperaturen, die am Versuchstag herrschten, mit Vorsicht zu geniessen sind. An diesem Tag hatte die Farblösung unübliche Kristallnadeln auf den Präparaten hinterlassen. Ein Artefakt ist deshalb nicht auszuschliessen. Die Wiederholung des Versuches an einem andern Tag war leider nicht mehr möglich. Auch die Resultate mit EDDS (Abbildung 32) sind etwas unsicher.

Sowohl im Kortex als auch in der Exodermis (im Apoplast) wurde mässig viel Zink entdeckt, jedoch nur in einem von drei Präparaten. Sonst gab es nur im Apoplast des Xylems ein Signal für wenig Zink.

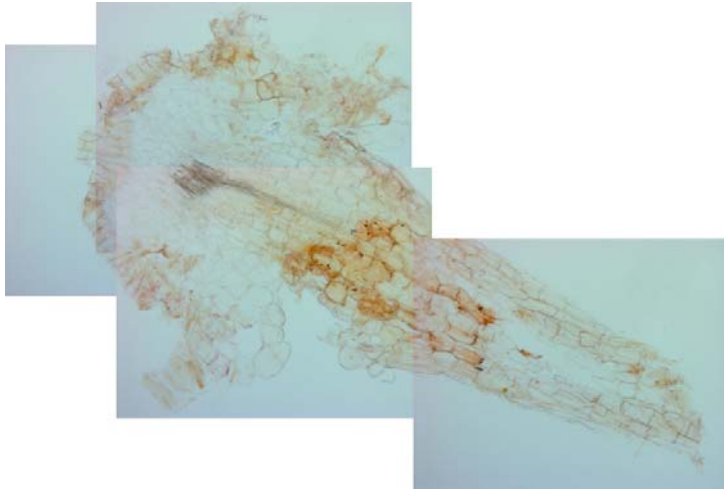


Abbildung 30: Wurzelquerschnitt der mit Zink und DTPA behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit Durchlicht.

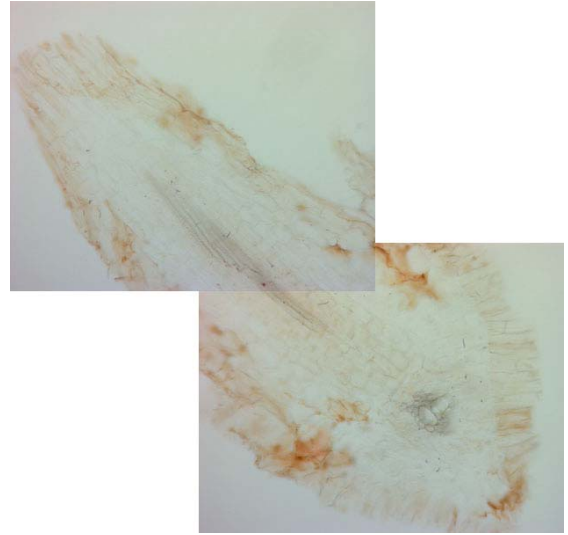


Abbildung 31: Wurzelquerschnitt der mit Zink und NTA behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit Durchlicht.

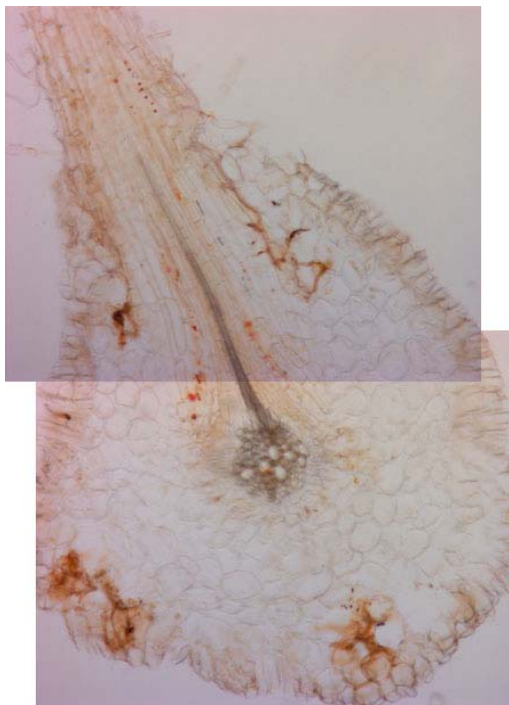


Abbildung 32: Wurzelquerschnitt der mit Zink und EDDS behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit Durchlicht.

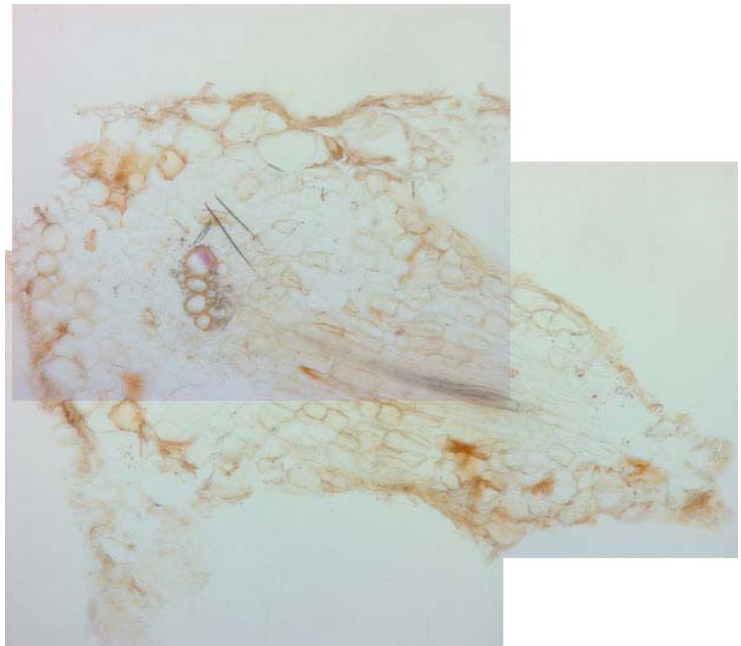


Abbildung 33: Wurzelquerschnitt der mit Zink und EDTA behandelten Pflanze. Gefärbt für die Mikroskopie mit Durchlicht.

Die Signale beim EDDS wiesen zum Teil eine atypische Farbe und Struktur auf, welche jedoch den üblichen Zinksignalen aus anderen Versuchen sehr ähnlich sahen. Auch in den Präparaten mit DTPA waren atypische Signale sichtbar, die vom Zink ausgehen könnten. Die normalerweise purpur erscheinenden Punkte waren hier violett. Ob es sich wirklich um Zink handelt, kann nicht mit Bestimmtheit gesagt werden.

In den meisten Fällen waren weder die Endodermis noch der Casparystreifen wirklich klar und durchgehend erkennbar. Leckstellen waren aus diesem Grund nicht bestimmbar. Es war schwierig zu entscheiden, ob die Gewebetypen unter dem Mikroskop nicht identifizierbar waren oder ob es sich tatsächlich um einen Defekt handelte.

Anhand der Resultate der beiden Färbungen kann angenommen werden, dass ungebundenes Zink die Endodermis passieren kann, komplexiertes jedoch nicht. Dies zeigt sich im überwiegenden Zinkvorkommen im Kortex und in der Exodermis der mit Zink und Komplexbildnern behandelten Pflanzen. Sie enthalten in der Endodermis und den Geweben innerhalb derselben nur sehr wenig Zink. Im Gegensatz dazu steht jene Pflanze, welche nur dem Zink ausgesetzt war. Dort ist das Zink relativ homogen über das gesamte Präparat verteilt. Jenes Zink, das sich im Apoplast des Xylems der mit Komplexbildnern behandelten Pflanzen befindet, könnte auch durch diese Leitbahnen von weiter unten in der Wurzel hierhin hochtransportiert worden sein. Es sagt also nichts über die Durchlässigkeit der Endodermis an der betrachteten Stelle der Wurzel aus. Auf welchem Weg das Zink bei diesen Wurzeln von der Rinde in den Zentralzylinder gelangte, kann aus den Präparaten nicht abgelesen werden. Keines der Präparate wies Stellen auf, an welchen sich Zink in auffälliger Weise angesammelt hatte. Es gibt weder Anhäufungen direkt bei der Endodermis, die auf einen Durchtritt des Zinks hinweisen könnten, noch linienförmige Aneinanderreihungen, welche den Weg des Zinks von der Rinde in den Zentralzylinder anzeigen würden. Der Durchtritt von Zink durch leckstellen in der Endodermis bzw. im Casparystreifen konnte also mit diesen Methoden nicht nachgewiesen werden. Auffällig ist jedoch, dass bei beiden Methoden in keiner einzigen Behandlung mit Zink und Komplexbildnern Zinksignale im Apoplast entdeckt wurden. Dafür gibt es drei mögliche Gründe: Komplextiertes Zink gelangt nicht über den Apoplasten durch den Kortex, komplexiertes Zink ist mit diesen Methoden nicht sichtbar oder die Detektionslimite ist höher als der vorhandene Zinkgehalt. Würde die erste Begründung tatsächlich zutreffen, so müsste Tandy's Annahme, die Komplexe wanderten über den Apoplasten durch den Kortex, in Frage gestellt werden.

Zu den Unterschieden zwischen den Einflüssen der vier Komplexbildner lässt sich keine Aussage machen, da die Resultate der beiden Methoden in diesem Fall nicht übereinstimmen. Während bei

der UV-Methode die Pflanzen mit NTA und EDDS deutlich mehr Zink im Kortex anzeigten, war es bei der Durchlichtmethode das DTPA. Dies obwohl die Präparate für beide Methoden jeweils vom exakt gleichen Wurzelabschnitt genommen wurden. Mit solchen mikroskopischen Untersuchungen können jedoch nur sehr kleine örtliche Stichproben gemacht werden. Für eine aussagekräftige Interpretation müssten umfangreichere Untersuchungen durchgeführt werden.

Mithilfe der beiden Zinkfärbe-Methoden war es leider nicht möglich zu erkennen, ob das signalisierte Zink in komplexierter Form vorliegt oder nicht. Es ist überhaupt unbekannt, in welcher Form das Zink auf dem Präparat vorlag. Dass die Komplexbildner (EDDS, NTA, DTPA und EDTA) mit den Chemikalien der Färbung interagieren, kann nicht ausgeschlossen werden. Verschiedene Arten der Interaktion sind vorstellbar. Die zugefügten Komplexbildner könnten mit den Färbechemikalien konkurrieren, so dass das Zinksignal ausbleiben könnte. Sie könnten auch das Signal verstärken oder seine Ausprägung auf eine andere Art verändern (andere Farbe etc.). Die atypischen Farben in der Durchlichtmethode beim EDDS und beim DTPA weisen auf eine solche Veränderung des Signales hin. DTPA und NTA scheinen zudem die „Eigenfluoreszenz“ des Gewebes heraufzusetzen. Da die Menge der zugegebenen Komplexbildner ca. viermal höher war als jene von Zink, wird davon ausgegangen, dass das signalisierte Zink im Kortex der jeweiligen Pflanzen komplexiert ist, also in dieser Form ebenfalls ein Signal aussendet. Ein weiteres Indiz dafür ist das Überwiegen des Zinkvorkommens in den Geweben ausserhalb der Endodermis.

Bei der Färbung für die Durchlichtmethode war das Signal sehr schwach. Ein Grund dafür könnte eine tatsächlich geringe Zinkaufnahme sein. Da jedoch bei der Färbung für UV viel mehr Zink detektiert wurde, könnten auch andere Einflüsse dafür verantwortlich sein. Das Zink könnte beispielsweise während der Färbung ausgewaschen worden sein oder die Detektionslimite liegt bei höheren Konzentrationen.

5 Diskussion

Den wichtigsten Unterschied zwischen den Resultaten aus der vorliegenden Arbeit und jenen von Tandy bildet die Zinkaufnahme in Anwesenheit von EDDS. Die Aufnahmemenge an Zinkkomplexen in die Sprosse war bei beiden Experimenten vermutlich ungefähr gleich gross (siehe Abbildung 34, A1 und A2). Diese Aufnahmemenge entspricht bei Tandy's Experiment dem Hauptteil an aufgenommenem Zink während im Experiment der vorliegenden Arbeit insgesamt 20-mal mehr Zink aufgenommen wurde. Diese erhöhte Aufnahme erfolgte über den Symplasten (siehe Abbildung 34, S2), über welchen das Zink als freies Metall aufgenommen wurde. Da Tandy viermal mehr Komplexbildner als Zink in die Nährlösung gab, war dort praktisch kein freies Zink mehr vorhanden (0.00035 %). Eine aktive Aufnahme über den Symplasten war deshalb nicht möglich. Durch die Reduktion der Komplexbildnerkonzentration im Experiment der vorliegenden Arbeit um den Faktor vier blieben noch 0.33 % des gesamten Zinkes unkomplexiert. Die Pflanzen hatten also die Möglichkeit, viel mehr Zink auf dem symplastischen Weg aufzunehmen.

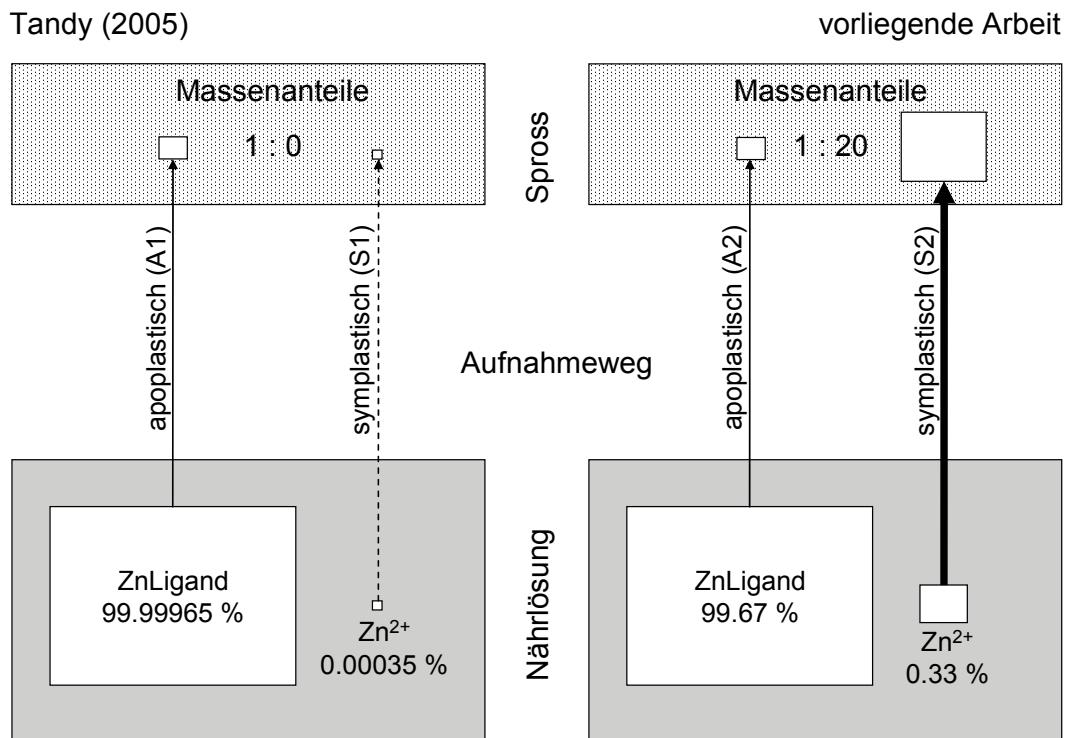


Abbildung 34: Apoplastische und symplastische Zinkaufnahme in Anwesenheit von EDDS. Vergleich des Experiments von Tandy mit jenem aus der vorliegenden Arbeit.

Wenn Zink also vorzugsweise in seiner freien Form von den Pflanzen aufgenommen wird, so müssten aus dem Vergleich der vier Komplexbildner der vorliegenden Arbeit vor allem die Pflanzen der Zinkbehandlung mit NTA Zink aufgenommen haben. Die freie Zinkkonzentration in der Nährlösung ist wie folgt: $\text{NTA} > \text{EDDS} > \text{EDTA} > \text{DTPA}$. Dementsprechend müsste der Zinkgehalt in den Pflanzen in derselben Reihenfolge abnehmen, was für NTA, EDTA und DTPA auch der Fall ist. Die Werte des EDDS weichen jedoch von dieser Annahme ab (siehe Abbildung 35 und Abbildung 36). Während NTA, EDTA und DTPA eine sehr hohe Korrelation zwischen dem freien Zink in der Lösung und der Aufnahme in die Wurzeln und die Sprosse zeigen, liegt der Wert des EDDS mit einer höheren Zinkaufnahme weit ab.

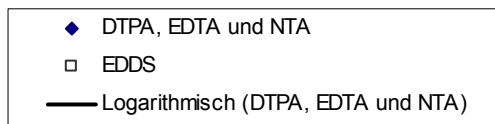
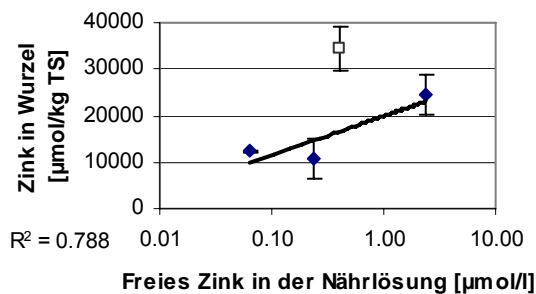


Abbildung 35: Freies Zink in der Nährlösung vs. Zink in den Wurzeln.

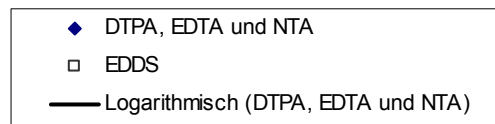
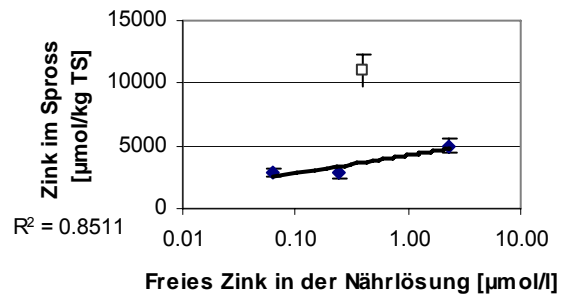


Abbildung 36: Freies Zink in der Nährlösung vs. Zink in den Sprossen.

Auch die Höhe der Ladung und die Stärke der Wurzelverfärbung würden darauf schliessen lassen, dass die Pflanzen in Anwesenheit der Komplexbildner bei der NTA-Behandlung das meiste Zink aufnehmen würden. Die Pflanzen aus der EDDS-Behandlung haben jedoch deutlich mehr Zink aufgenommen. Beim EDDS muss also irgendetwas anders sein als bei den andern drei Komplexbildnern. Ein Unterschied findet sich in der Struktur. Bei NTA, DTPA und EDTA handelt es sich um Komplexbildner mit charakteristischen tertiären Aminen, während EDDS sekundäre Amine mit je einem Wasserstoffatom besitzt. Ob und wie sich dies auf die Zinkaufnahme durch Pflanzen auswirkt, müsste noch geprüft werden.

Verschiedene Anzeichen sprechen dafür, dass mit EDDS behandelte Pflanzen einen Teil des Zinks als Komplex aufgenommen haben. Eines davon liefern die Resultate der Komplexbildnergehalte. Sowohl die Resultate aus diesem Versuch als auch jene von Tandy zeigen eine erhöhte EDDS-

Aufnahme in die Sprosse, wenn der Nährlösung zusätzlich zum Komplexbildner Zink beigegeben wird. Diese Besonderheit der Steigerung der Komplexbildneraufnahme konnte beim DTPA nicht festgestellt werden. Im Weiteren konnte aus der Bewertung der äusseren Erscheinung der Wurzeln (Verfärbungsgrad) und den Messungen des Zinkgehalts herausgelesen werden, dass die Wurzeln der mit EDDS behandelten Pflanzen zwar mehr Zink aufgenommen haben als jene mit NTA, jedoch weniger durch das Zink angegriffen wurden. Gemäss Senden and Wolterbeek (1990) sind Metallkationen reaktiv und müssen von der Pflanze komplexiert werden, damit sie unschädlich transportiert werden können. Das Zink in den EDDS-Pflanzen muss also in irgendeiner komplexierten Form vorliegen, damit es die Pflanzenwurzel nicht angreift. Dass die Aufnahme des Zinks in die Pflanzen als Komplex eine wichtige Rolle spielt, ist trotzdem fraglich, da das Verhältnis zwischen der Aufnahme von Zink und EDDS sowohl in der Wurzel wie auch im Spross ca. 20:1 entspricht. Aus diesem Grund hat auch die Ladung der Komplexe zweifellos nur einen kleinen Einfluss auf die Differenzen in der Zinkaufnahme der verschiedenen Behandlungen.

Eine mögliche Erklärung für die erhöhte Aufnahme wäre eine Interaktion des EDDS mit den Zinkaufnahmemechanismen, welche den Transport des Zinks in die Pflanze heraufsetzt. In den Versuchen mit dem Lichtmikroskop konnte leider nichts Spezielles festgestellt werden. Weder die Tabelle aus der Zinkbewertung noch die Fotos weisen auf irgendeine Besonderheit des EDDS im Vergleich zu den andern Komplexbildnern hin. Es bleibt an dieser Stelle zu erwähnen, dass bei den Mikroskopieversuchen viel mehr Komplexbildner eingesetzt wurden als bei den Versuchen mit dem Zink- und Komplexbildnergehalt dieser Arbeit. Ein direkter Vergleich ist somit nicht möglich. Die in den Mikroskopieuntersuchungen verwendeten Konzentrationen an Zink und Komplexbildnern stimmen mit jenen aus Tandys Nährlösungsversuchen überein. Sie hatte weniger Zink in den mit Zink und EDDS behandelten Pflanzen gemessen (ca. 20mal weniger als in unserem Versuch).

In ihrer Präsentation am DGT-Workshop 2005 an der Lancaster University wiesen Degryse et al. darauf hin, dass es Unterschiede gibt in der Metallaufnahme bei gleicher Konzentration an freien Metallionen unter Zugabe von unterschiedlichen Komplexbildnern. Sie glauben, dass dies mit der Dissoziationsrate der Metallkomplexe zu tun hat. In Anwesenheit von Komplexbildnern in der Nährlösung stehen der Pflanze nur wenige freie Zinkionen zur Verfügung. Durch deren Aufnahme über die Wurzeln entsteht in der Nährlösung nahe der Wurzeloberfläche eine Untersättigung an Zink. Zur Wiederherstellung des Gleichgewichts dissoziieren Zink und die jeweiligen Liganden. Je schneller diese Trennung abläuft, desto mehr Zink kann die Pflanze aufnehmen. Degryse et al. haben die Cadmiumaufnahme verschiedener Pflanzen in Nährlösungen mit und ohne Komplexbildner, bei einer konstanten Konzentration an freiem Metall gemessen und die Dissoziationskonstante mit der

Methode des kompetitiven Ligandenaustausches bestimmt. Aus ihren Resultaten schliessen sie, dass gelöste Cadmiumkomplexe die Cadmiumverfügbarkeit heraufsetzen können. Van Doornmalen et al. (2002) haben dieses Problem in der aquatischen Umwelt betrachtet. Unter natürlichen Konditionen, wo sich die Umgebungsparameter ständig verändern und die Reaktionsraten eher langsam sind, reicht es nicht, die chemische Speziation mit Gleichgewichtsberechnungen anzunähern. Der dynamische Charakter der Metallspeziation ist zu berücksichtigen. Eine bessere Einsicht ins Metallverhalten wird über die Kinetik erreicht. Ein wichtiger kinetischer Parameter der Metallspeziation ist die Labilität des Metallkomplexes, das heisst, die Fähigkeit eines Komplexes, in das freie Metallion und den Liganden zu dissoziieren. Der Parameter, der die Labilität eines Metallkomplexes bestimmt, ist die Dissoziationsrate (F_d), mit der zugehörigen Dissoziationsratenkonstante k_d .

Grund für die höhere Zinkaufnahme in Anwesenheit von EDDS gegenüber den andern Komplexbildnern der vorliegenden Arbeit könnte also eine grössere Dissoziationskonstante sein. Um diese Annahme prüfen zu können, müsste diese Konstante noch bestimmt werden. Es wurden bereits mehrere Studien zur Messung der Dissoziationskonstanten verschiedener Metallkomplexe durchgeführt (z.B. van Doornmalen et al. 2002 und Sekaly et al. 1998). Für Metallkomplexe mit EDDS konnten jedoch keine Daten gefunden werden. Eine relativ einfache, schnelle und günstige Methode bildet die Ionenextraktion mithilfe von Chelex-100, wie sie van Doornmalen et al. (2002) beschrieben.

Es gibt auch die Möglichkeit, die Dissoziationskonstante zu berechnen. Für mehrzählige Liganden kann k_d gemäss Gleichung (1) aus der Stabilitätskonstante des Metallkomplexes (K_{ML}), der Austauschrate von Wasser bei aquatisierten Metallionen (k^{M-H_2O}) und der „outer-sphere association-Konstante“ (K_{OS}) berechnet werden (Margerum et al. 1978):

$$(1) \quad k_d = \frac{K_{OS} k^{M-H_2O}}{K_{ML}}$$

Während K_{ML} und k^{M-H_2O} aus Tabellenwerken abgelesen werden können ($k^{Zn^{2+}-H_2O} = 7 \times 10^7$), bzw. für die vorliegende Arbeit bekannt sind, muss K_{OS} wiederum berechnet werden. Margerum et al. (1978) schlagen folgende Gleichung (2) für labile Metallionen vor:

$$(2) \quad K_{OS} = \frac{4\pi N a^3}{3000} e^{-b} e^{\frac{b\kappa a}{1+\kappa a}}$$

N = Avogadro-Konstante

a = Abstand zwischen den Zentren des Metalls und des Liganden in cm.

κ = Debye-Hückel (ion atmosphere parameter)

$$b = \frac{Z_M Z_L e_0^2}{a \epsilon k T}$$

Z = formale Ladung der reagierenden Spezies

e_0 = electronic charge (esu)

ϵ = Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels

k = Boltzmannkonstante

T = absolute Temperatur

Die Anwendung dieser Formel war leider in dieser Arbeit nicht mehr möglich. Zum Teil war unklar, welche Werte bzw. Konstanten genau gemeint waren, andererseits fehlten die Daten für den Abstand a . Auch die Dielektrizitätskonstante der Nährlösung hätte entweder gemessen werden müssen oder es hätte eine Annahme getroffen werden müssen, was das Resultat noch stärker beeinflusst hätte. Schlussendlich wäre das direkte Messen der Dissoziationskonstante einfacher und präziser als das Berechnen.

6 Schlussfolgerungen

Die Hypothese 1 stimmt nur bezüglich NTA, EDTA und DTPA. EDDS folgt der Annahme, die Höhe der Komplexbildungskonstante bestimme die Reihenfolge der Zinkaufnahme nicht. Auch die Ladung der Komplexe hat keinen Einfluss auf die Zinkaufnahme. Die Hypothese muss deswegen für den Vergleich dieser vier Komplexbildner verworfen werden. EDDS gehorcht offensichtlich anderen Gesetzmässigkeiten, welche zuerst noch ermittelt werden müssen. Möglicherweise sind Unterschiede in der Dissoziationsrate für die erhöhte Aufnahme des Zinks in EDDS-Behandlungen im Vergleich zu den andern Komplexbildnern verantwortlich. Messungen in diesem Bereich sind nötig, um eine Aussage darüber machen zu können.

Die Hypothese zwei kann ebenfalls nicht bestätigt werden. Sie muss aber auch nicht verworfen werden, da sich die Methode nicht eignete, die Aufnahmewege des Zinkes zu ermitteln. Gemäss den Zinkmessungen der vorliegenden Arbeit, wie auch jenen von Tandy wurde von den Pflanzen auch in Anwesenheit der Komplexbildner Zink aufgenommen. Mithilfe des Lichtmikroskopes konnte jedoch in den Geweben innerhalb der Endodermis praktisch kein Zink nachgewiesen werden, obwohl offensichtlich welches vorhanden ist.

7 Ausblick

EDDS ist ein biologisch abbaubarer Komplexbildner, welcher offensichtlich das Potential hat, zur Steigerung der Phytosanierung eingesetzt zu werden. Weitere Forschung zum Verständnis der Mechanismen, welche zu dieser Steigerung führen, sind nötig, um den Einsatz des EDDS optimieren zu können. Die in dieser Arbeit mit dem EDDS verglichenen Komplexbildner besitzen jeweils tertiäre Amine. EDDS hingegen hat an dieser Stelle sekundäre Amine. Es wäre interessant herauszufinden, ob dies der Grund für die erhöhte Zinkaufnahme durch mit EDDS behandelte Pflanzen ist. Weitere Untersuchungen sind nötig, um abzuklären, ob sich die Dissoziationsrate der betrachteten Komplexbildner unterscheidet und ob jene des EDDS höher ist als die aller andern.

Anhand der mikroskopischen Untersuchungen in dieser Arbeit konnte festgestellt werden, dass Komplexbildner einen Einfluss auf die Zinkaufnahme durch Pflanzen haben, bzw. diese in Nährlösungsversuchen herabsetzt. Die angewendeten Zinkfärbemethoden wurden jedoch zuvor weder an Sonnenblumen getestet, noch wurde deren Reaktion auf verschiedene Komplexbildner untersucht. Möglicherweise vermochten die Komplexbildner die Methode so zu verändern, dass die Resultate beeinflusst wurden. Für weitere Untersuchungen müsste vorerst die Reaktion der Färbelösungen auf die Komplexbildner in einem neutralen Medium, also nicht im Pflanzenmaterial, untersucht werden. Zudem stellt sich die Frage, ob nicht andere Methoden dafür verwendet werden sollten, da mit den hier angewendeten Methoden nur das Zink ermittelt werden kann, nicht aber dessen Form. Interessant wäre nämlich zu wissen, ob das Zink in der Pflanze als Komplex oder in seiner freien Form vorkommt. Tanton und Crowdy (1971) verwendeten z.B. eine Methode, mit der Pb-EDTA nach der Aufnahme in die Pflanze ausgefällt und im Gewebe mit Hilfe von Licht- und Elektronenmikroskopen sichtbar gemacht werden kann.

Literaturverzeichnis

- Bell, P. F., McLaughlin, M. J., Cozens, G., Stevens, D. P., Owens, G. and South, H. 2003. Plant uptake of ^{14}C -EDTA, ^{14}C -Citrate, and ^{14}C -Histidine from chelator-buffered and conventional hydroponic solutions. *Plant and Soil*, 253: 311 – 319.
- Blaylock, M. J., Salt, D. E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B. D., and Raskin, I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 860 – 865.
- Brown, T. L., und LeMay, H. E. 1988. *Chemie – Ein Lehrbuch für alle Naturwissenschaftler*. 3. Auflage, Verlag VCH, Weinheim, 934 S.
- Campbell P. G. C. 1995. Metal Speciation and Bioavailability in aquatic systems; Turner, D.R., Ed. John Wiley & Sons, New York. pp. 45 – 102.
- Degryse, F., Smolders, E., and Merckx. 2005. Labile cadmium complexes contribute to DGT measured fluxes and to plant uptake. Presentation at the DGT Workshop, Lancaster University.
- Epstein, A.L., Gussman, O., Blaylock, M.J., Yermiyahu, U., Kapulnik, Y., and Orser, C. 1999. EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. *Plant and Soil*, 208: 87 – 94.
- Garbisu, C., and Alkorta, I. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology*, 77: 229-236.
- Grčman H., Velikonja-Bolta Š., Vodnik D., Kos B., and Leštan D. 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. *Plant and Soil*, 235: 105 – 114.
- Huang, J. W., Chen, J., Berti, W. R., and Cunningham, S. D. 1997. Phytoremediation of lead contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environ. Sci. Technol.* 31: 800 – 805.
- Jaworska, J. S., Schowanek, D., and Feijtel, T. C. J. 1999. Environmental risk assessment for trisodium [S,S]-ethylene diamine disuccinate, a biodegradable chelator used in detergent applications. *Chemosphere*, 38: 3597 – 3625.
- Knepper, T. P., and Weil, H. 2001. Studie zum Eintrag synthetischer Komplexbildner und Substanzen mit komplexbildenden Eigenschaften in die Gewässer. *Vom Wasser*, 97: 193 – 232.
- Kumar, N. P. B. A., Dushenkov, V., Motto, H., and Raskin, I. 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science and Technology*, 29: 1232 – 1238.
- Lüttge, U., Kluge, M., und Bauer, G. 2002. *Botanik*. 4. Auflage, Verlag Wiley-VCH, Weinheim, 625 S.

- Margerum, D. W., Cayley, R. G., Weatherburn, D. C., and Pagenkopf, G. K. 1978. Kinetics and Mechanisms of Complex Formation and Ligand Exchange, in "Coordination Chemistry", Martell, AE (Ed). ACS Monograph 174. American Chemical Society.
- Marschner, H. 1986. Mineral Nutrition of Higher Plants. 1. Auflage, Academic Press Limited, London, 674 S.
- Martell, A. E., Smith, R. M., and Motekaitis, R. J. 2001. NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes, V6.0. NIST, Gaithersburg, USA.
- Meers, E., Ruttens, A., Hopgood, M. J., Samson, D., and Tack, F. M. G. 2005. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, 58: 1011 – 1022.
- Mulligan, C. N., Yong, R. N., and Gibbs, B. F. 2001. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology*, 60: 193 – 207.
- Nowack, B., Kari, F. G., Hilger, S. U., and Sigg, L. 1996. Determination of dissolved and adsorbed EDTA species in water and sediments by HPLC, *Analytical Chemistry*, 68: 561 – 566.
- Nowack, B., and VanBriesen, J. 2005. Biogeochemistry of chelating agents. ACS Symposium Series, Vol. 910. 1. Auflage. Oxford University Press, 458 S.
- Orama, M., Hyvonen, H., Saarinen, H., and Aksela, R. 2002. Complexation of [S,S] and mixed stereoisomers of N, N'-ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) with Fe(III), Cu(II), Zn(II) and Mn(II) ions in aqueous solution. *J. Chem. Soc., Dalton Transactions*, 24: 4644 – 4648.
- Piechalak, A., Tomaszewska, B., Baralkiewicz, D., and Malecka, A. 2002 Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. *Phytochemistry*, 60: 153 – 162.
- Pulford, I. D., and Watson, C. 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees – a review. *Environment International*, 29: 529 – 540.
- Roos, H.-J. 1995, Schwermetallentfernung aus Böden und Rückständen mit Hilfe organischer Komplexbildner. Dissertation. Abfall – Recycling – Altlasten Nr. 7, RWTH Aachen. 221 S.
- Ross, S. M. 1994. Toxic Metals in Soil-Plant Systems. Chichester [etc.]: Wiley. 469 S.
- Salt, E. D., Smith, R. D., and Raskin, I. 1998. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 643 – 668.
- Schmidt, U. 2003. Enhancing phytoextraction: The effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *J. Environ. Qual.*, 32: 1939 – 1954.
- Sekaly, A. L. R., Back, M. H., Chakrabarti, C. L., Grégoire, D. C. , Lu, J. Y., and Schroeder, W. H. 1998. Measurements and analysis of dissociation rate constants of metal-fulvic

- acid complexes in aqueous solutions. Part II: measurement of decay rates by inductively-coupled plasma mass spectrometry and determination of rate constants for dissociation. *Spectrochimica Acta Part B*, 53: 847 – 858.
- Senden M. H. M. N., and Wolterbeek, H. T. 1990. Effect of citric-acid on the transport of cadmium through xylem vessels of excised tomato stem-leaf systems. *Acta Botanica Neerlandica*, 39: 297 – 303.
- Smith, R. M., and Martell, A. E. 1976. *Critical Stability Constants*. Plenum Press, New York. Vol. 1 – 5.
- Tandy, S., Bossart, K., Müller, R., Ritschel, J., Hauser, L., Schulin, R., and Nowack, B. 2004. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 38: 937 – 944.
- Tandy, S. 2005. The use of EDDS in soil washing and phytoremediation, Diss. ETH No. 16039
- Tandy, S., Schulin, R., Suter, M. J.-F., and Nowack, B. 2005a. Determination of [S,S']-ethylenediamine disuccinic acid (EDDS) by high performance liquid chromatography after derivatization with FMOc. *Journal of Chromatography A*, 1077: 37 – 43.
- Tandy, S., Schulin, R., and Nowack, B. 2005b. The influence of SS-EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflowers. *Chemosphere*, in press.
- Tanton T. W., and Crowdy S.H. 1971. The Distribution of lead chelate in the transpirational stream of higher plants. *Pestic. Sci.* 2: 211 – 213.
- Tuulos-Tikka, S., Sillanpää, M. and Rämö, J. 2000. Determination of nitrilotriacetic acid in waste and natural waters. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 77: 221 – 232.
- Unger, K. K. 1989. *Handbuch der HPLC, Leitfaden für Anfänger und Praktiker*, GIT Verlag
- Van Doornmalen, J., Wolterbeek, H. T., and de Goeij, J. J. M. 2002. Analysis of copper complex lability using ⁶⁴Cu-equilibration techniques and free-ion selective radiotracer extraction. *Analytica Chimica Acta* 464: 141 – 152.
- VBBö. Verordnung über Belastungen des Bodens (VBBö) des Schweizerischen Bundesrates vom 1. Juli 1998. Eidgenössische Drucksachen- und Materialzentrale, SR-Nr. 814.12, Bern, 12 Seiten. PDF-Datei: <http://www.admin.ch/ch/d/sr/8/814.12.de.pdf>
- Vassil, A. D., Kapulnik, Y., Raskin, I., and Salt, D. E. 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard. *Plant Physiol.*, 117: 447 - 453
- Wenzel W. W., Unterbrunner R., Sommer P., and Sacco P. 2003. Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments. *Plant and Soil* 249: 83 – 96.
- Wu, L. H., Luo, Y. M., Xing, X. R., and Christie, P. 2004. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agr. Ecosyst. Environ.* 102: 307 – 318.

Anhang

Anhang A: Liste der Chemikalien	60
Anhang B: Log K-Werte Spezierungsrechnung.....	61
Anhang C1: Messresultate Wurzeln.....	62
Anhang C2: Messresultate Sprosse.....	63
Anhang C3: Messresultate Nährlösung.....	64
Anhang D1: Resultate der Nährlösungsspezierung (Kontrolle).....	65
Anhang D2: Resultate der Nährlösungsspezierung (DTPA)	65
Anhang D3: Resultate der Nährlösungsspezierung (EDDS)	66
Anhang D4: Resultate der Nährlösungsspezierung (EDTA und NTA)	67
Anhang E: Daten zu den einzelnen Abbildungen im Text.....	68

Anhang A: Liste der Chemikalien

Bezeichnung	Formel	Lieferant
Aceton	CH_3COOH_3	Merck
Acetonitril	CH_3CN	Merck
Ammoniumsulfat	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Merck
Borsäure	H_3BO_3	Fluka
Calciumnitrat-Tetrahydrat	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Merck
Dichlormethan	CH_2Cl_2	Merck
Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck
DTPA (Diethylentriaminpentaessigsäure)	$\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{10}$	Merck
Eisen-(II)-Sulfat-Heptahydrat	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Fluka
Eisen-(III)-Chlorid wasserfrei	$\text{Fe}(\text{III})\text{Cl}_3$	Riedel - de Haën
Fmoc (9-fluorenylmethyl chloroformat)	$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_2$	Fluka
Kaliumhydrogenphosphat	KH_2PO_4	Merck
Kaliumnitrat	KNO_3	Merck
Kupfer-(II)-Sulfat-Pentahydrat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Merck
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Merck
Mangan-(II)-Sulfat-Monohydrat	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Fluka
MES (2-Morpholinoethansulfonsäure-Monohydrat)	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$	Merck
$\text{Na}_2\text{H}_2\text{-EDTA}$ (Ethylendinitrilotetra-essigsäure Dinatriumsatz-Dihydrat)	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck
$\text{Na}_3\text{-[S,S]-EDDS}$ ([S,S]-Ethylendiamin-N,N'-disuccinic acid)	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_8$	Procter and Gamble
$\text{Na}_3\text{-NTA}$ (Nitrilotriessigsäure-Trinatriumsalz-Hydrat)	$\text{C}_6\text{H}_6\text{NNa}_3\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Fluka
Natriumchlorid	NaCl	Merck
Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Merck
Natriummolybdat	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck
Reinstwasser	H_2O	Millipore
Salpetersäure 65%	HNO_3	Merck
Salzsäure 32%	HCl	Merck
Wasserstoffperoxid 30%	H_2O_2	Merck
Zinkstandard	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (1M) in 0.5M HNO_3	Merck
Zinksulfat-Heptahydrat	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Merck

Anhang B: Log K-Werte Speziierungsrechnung

Species	Log K	Species	Log K	Species	Log K
Ca++	0.00	CaDTPA---	12.95	CaNTA-	7.76
CaOH+	-12.78	CaHDTPA--	19.61	Ca(NTA)2----	9.48
CaNO3+	0.70	ZnDTPA---	20.40	FeNTA	17.88
Ca(NO3)2	0.60	ZnHDTPA--	26.55	FeNTA2---	25.98
CaSO4	2.31	DTPA----	0.00	MgNTA-	6.82
Fe+++	0.00	HDTPA----	11.49	NaNTA--	1.88
FeOH++	-2.19	H2DTPA---	20.86	ZnNTA-	11.92
Fe(OH)2+	-5.67	H3DTPA--	25.69	Zn(NTA)2----	14.24
Fe(OH)3(aq)	-12.56	H4DTPA-	28.72	Zn(OH)NTA--	2.44
Fe(OH)4-	-21.60	H5DTPA	30.83	NTA---	0.00
Fe2(OH)2++++	-2.95	H6DTPA+	32.32	HNTA--	10.14
Fe3(OH)4+++++	-6.30	H7DTPA++	32.69	H2NTA-	12.95
FeSO4+	4.04	MgDTPA---	11.47	H3NTA	14.84
Fe(SO4)2-	5.38	MgHDTPA--	18.87	H4NTA+	15.95
FeNO3++	1.00	FeDTPA--	31.30	NTA---	0.00
K+	0.00	FeHDTPA-	35.19		
KOH	-14.50	Fe(OH)DTPA---	21.09		
KNO3	-0.15				
KSO4-	0.85				
Mg++	0.00				
MgOH+	-11.44				
Mg4OH4++++	-39.72				
MgSO4	2.23				
Na+	0.00				
NaOH	-14.20				
NaNO3	-0.60				
NaSO4-	0.70				
Zn++	0.00				
ZnOH+	-9.00				
Zn(OH)2	-16.90				
Zn(OH)3-	-28.40				
Zn(OH)4--	-41.20				
Zn2OH+++	-9.00				
ZnNO3+	0.40				
Zn(NO3)2	-0.30				
ZnSO4	2.38				
Zn(SO4)2--	3.16				
Zn(SO4)3----	1.70				
Zn(SO4)4-----	-0.70				
H2CO3(atm)	-1.50				
HCO3-(atm)	-7.80				
CO3-2(atm)	-18.00				
NO3-	0.00				
SO4--	0.00				
HSO4-	1.99				
MES-	0.00				
MESH	6.27				
OH-	-14.00				
H+	0.00				

Species	Log K
CaEDTA--	12.40
CaHEDTA-	16.00
FeEDTA-	27.70
FeHEDTA	29.20
FeOHEDTA--	18.47
Fe(OH)2EDTA---	13.87
KEDTA---	1.70
MgEDTA--	10.60
MgHEDTA--	15.10
NaEDTA---	2.50
ZnEDTA--	18.30
ZnHEDTA-	21.70
Zn(OH)EDTA---	6.10
EDTA----	0.00
HEDTA---	10.24
H2EDTA--	16.40
H3EDTA-	19.06
H4EDTA	21.06

Species	Log K
CaEDDS--	6.30
CaHEDDS-	13.50
ZnEDDS--	15.30
ZnHEDDS-	19.30
ZnH3EDDS+	25.20
Zn(OH)EDDS---	3.50
EDDS----	0.00
HEDDS---	10.90
H2EDDS--	18.30
H3EDDS-	22.50
H4EDDS	25.70
H5EDDS+	27.00
H6EDDS++	28.70
MgEDDS--	7.80
MgHEDDS-	13.90
FeEDDS-	23.70
Fe(OH)EDDS--	15.40
Fe(OH)2EDDS---	4.60

Anhang C1: Messresultate Wurzeln

Trockengewicht, Zink- und Komplexbildnergehalt

Behandlung	TS Wurzel [g]	Zink in Wurzel [μMol/kg TS]	Komplexbildner in Wurzel [μmol/kg TS]
K 1	1.305	712.985	
K 2	0.538	469.349	
K 3	0.573	460.114	
K Zn 1	0.389	86'757.642	
K Zn 2	0.643	76'079.227	
K Zn 3	0.164	141'421.986	
EDTA 1	0.635	510.421	
EDTA 2	0.514	400.412	
EDTA 3	0.478	409.074	
EDTA Zn 1	0.785	19'547.863	
EDTA Zn 2	0.280	6'660.273	
EDTA Zn 3	0.826	6'209.876	
EDDS 1	0.905	546.145	4'013.321
EDDS 2	0.396	539.498	1'495.091
EDDS 3	0.491	434.906	3'289.069
EDDS Zn 1	0.940	29'907.749	1'444.573
EDDS Zn 2	0.279	29'334.288	670.377
EDDS Zn 3	0.561	43'924.223	3'053.902
DTPA 1	0.716	368.476	1'346.570
DTPA 2	0.584	386.366	1'866.012
DTPA 3	0.420	336.114	1'943.368
DTPA Zn 1	0.751	12'062.688	1'436.914
DTPA Zn 2	1.002	12'057.075	1'679.403
DTPA Zn 3	0.525	12'887.402	5'473.692
NTA 1	1.217	337.534	
NTA 2	0.684	368.252	
NTA 3	0.274	343.981	
NTA Zn 1	0.968	11'506.781	
NTA Zn 2	0.718	25'053.061	
NTA Zn 3	0.966	24'480.922	

Anhang C2: Messresultate Sprosse

Trockengewicht, Zink- und Komplexbildnergehalt

Behandlung	TS Spross [g]	Zink in Spross [μMol/kg TS]	Komplexbildner in Spross [μmol/kg TS]
K 1	3.052	597.664	
K 2	1.239	404.731	
K 3	1.403	485.821	
K Zn 1	1.634	23'085.180	
K Zn 2	2.559	17'298.899	
K Zn 3	0.816	14'866.685	
EDTA 1	2.022	377.321	
EDTA 2	1.667	371.668	
EDTA 3	1.212	282.092	
EDTA Zn 1	2.255	3'447.226	
EDTA Zn 2	0.658	3'106.262	
EDTA Zn 3	1.784	1'866.732	
EDDS 1	2.038	303.580	248.301
EDDS 2	1.205	319.157	108.727
EDDS 3	1.435	456.224	84.770
EDDS Zn 1	2.165	8'713.633	377.393
EDDS Zn 2	0.716	12'928.181	127.201
EDDS Zn 3	1.413	11'304.965	802.061
DTPA 1	2.147	315.181	117.066
DTPA 2	1.803	309.044	43.938
DTPA 3	1.054	231.242	67.579
DTPA Zn 1	1.536	2'358.752	2.639
DTPA Zn 2	2.125	2'885.616	99.693
DTPA Zn 3	0.877	3'324.226	379.894
NTA 1	2.820	486.781	
NTA 2	1.819	399.836	
NTA 3	0.798	388.497	
NTA Zn 1	2.412	3'874.386	
NTA Zn 2	1.778	5'702.280	
NTA Zn 3	2.326	5'397.268	

Anhang C3: Messresultate Nährlösung

pH-Wert und Zinkgehalt vor und nach dem Experiment

Behandlung	pH-Wert bei Versuchs- beginn	pH-Wert bei Versuchs- ende	Zinkkonzentration bei Versuchs- beginn [μmol/l]	Zinkkonzentration bei Versuchsende [μmol/l]
K 1	5.980	4.610	0.010	0.115
K 2	5.980	5.750	0.010	0.089
K 3	5.980	5.640	0.010	0.164
K Zn 1	6.000	6.180	121.965	45.486
K Zn 2	6.000	6.430	121.965	26.249
K Zn 3	6.000	6.200	121.965	86.761
EDTA 1	6.000	5.140	0.010	0.348
EDTA 2	6.000	5.270	0.010	0.537
EDTA 3	6.000	5.780	0.010	0.162
EDTA Zn 1	5.990	4.960	121.965	97.396
EDTA Zn 2	5.990	5.950	121.965	115.030
EDTA Zn 3	5.990	5.150	121.965	116.922
EDDS 1	5.980	4.950	0.010	0.053
EDDS 2	5.980	5.690	0.010	0.090
EDDS 3	5.980	5.410	0.010	0.057
EDDS Zn 1	5.990	5.210	121.965	74.518
EDDS Zn 2	5.990	5.920	121.965	106.159
EDDS Zn 3	5.990	5.710	121.965	87.268
DTPA 1	6.000	4.950	0.010	0.482
DTPA 2	6.000	5.220	0.010	0.378
DTPA 3	6.000	5.650	0.010	0.231
DTPA Zn 1	6.010	5.220	121.965	110.940
DTPA Zn 2	6.010	4.990	121.965	105.176
DTPA Zn 3	6.010	5.950	121.965	111.088
NTA 1	6.000	5.250	0.010	0.042
NTA 2	6.000	5.420	0.010	0.057
NTA 3	6.000	6.000	0.010	0.127
NTA Zn 1	5.990	5.490	121.965	102.714
NTA Zn 2	5.990	5.190	121.965	94.262
NTA Zn 3	5.990	5.180	121.965	78.547

Anhang D1: Resultate der Nährlösungsspeziierung (Kontrolle)

Spezies/Behandlung	Versuchsbeginn		Versuchsende					
	K	K Zn	K1	K2	K3	K Zn 1	K Zn 2	K Zn 3
Zn++	9.67E-09	1.18E-04	1.11E-07	8.61E-08	1.59E-07	4.40E-05	2.53E-05	8.39E-05
ZnOH+	7.78E-12	9.97E-08	3.84E-12	4.09E-11	5.85E-11	5.62E-08	5.75E-08	1.12E-07
Zn(OH)2	8.82E-14	1.19E-09	1.86E-15	2.73E-13	3.04E-13	1.01E-09	1.84E-09	2.12E-09
Zn(OH)3-	2.81E-19	3.97E-15	2.55E-22	5.14E-19	4.44E-19	5.12E-15	1.65E-14	1.12E-14
Zn(OH)4--	5.02E-26	7.45E-22	1.95E-30	5.41E-26	3.64E-26	1.45E-21	8.34E-21	3.34E-21
Zn2OH+++	9.43E-20	1.47E-11	5.35E-19	4.41E-18	1.16E-17	3.10E-12	1.82E-12	1.18E-11
ZnNO3+	3.02E-11	3.69E-07	3.48E-10	2.69E-10	4.96E-10	1.37E-07	7.90E-08	2.62E-07
Zn(NO3)2	8.39E-15	1.02E-10	9.65E-14	7.47E-14	1.38E-13	3.81E-11	2.19E-11	7.28E-11
ZnSO4	2.89E-10	3.47E-06	3.32E-09	2.57E-09	4.74E-09	1.31E-06	7.54E-07	2.48E-06
Zn(SO4)2--	3.41E-13	4.02E-09	3.90E-12	3.03E-12	5.59E-12	1.53E-09	8.85E-10	2.89E-09
Zn(SO4)3----	3.62E-18	4.20E-14	4.14E-17	3.22E-17	5.93E-17	1.62E-14	9.37E-15	3.03E-14
Zn(SO4)4-----	6.92E-24	7.90E-20	7.91E-23	6.16E-23	1.14E-22	3.07E-20	1.79E-20	5.73E-20
Total Zn (mol/l)	1.00E-08	1.22E-04	1.15E-07	8.90E-08	1.64E-07	4.55E-05	2.62E-05	8.68E-05

Anhang D2: Resultate der Nährlösungsspeziierung (DTPA)

Spezies/Behandlung	Versuchsbeginn		Versuchsende					
	DTPA	DTPA Zn	DTPA 1	DTPA 2	DTPA 3	DTPA Zn 1	DTPA Zn 2	DTPA Zn 3
Zn++	2.12E-15	6.28E-08	2.55E-13	1.18E-13	4.83E-14	1.26E-10	2.69E-11	6.20E-11
ZnOH+	1.79E-18	5.43E-11	1.77E-17	1.65E-17	1.82E-17	1.77E-14	2.22E-14	4.68E-14
Zn(OH)2	2.14E-20	6.61E-13	1.73E-20	3.26E-20	9.67E-20	3.49E-17	2.59E-16	4.97E-16
Zn(OH)3-	7.14E-26	2.26E-18	4.73E-27	1.81E-26	1.45E-25	1.94E-23	8.51E-22	1.49E-21
Zn(OH)4--	1.34E-32	4.35E-25	7.28E-35	5.63E-34	1.21E-32	6.03E-31	1.57E-28	2.49E-28
Zn2OH+++	4.77E-33	4.27E-18	5.66E-30	2.45E-30	1.10E-30	2.80E-24	7.48E-25	3.64E-24
ZnNO3+	6.64E-18	1.96E-10	7.98E-16	3.69E-16	1.51E-16	3.95E-13	8.39E-14	1.94E-13
Zn(NO3)2	1.84E-21	5.44E-14	2.22E-19	1.02E-19	4.19E-20	1.10E-16	2.33E-17	5.38E-17
ZnSO4	6.43E-17	1.88E-09	7.69E-15	3.57E-15	1.47E-15	3.79E-12	8.12E-13	1.87E-12
Zn(SO4)2--	7.68E-20	2.21E-12	9.13E-18	4.26E-18	1.75E-18	4.48E-15	9.67E-16	2.21E-15
Zn(SO4)3----	8.27E-25	2.35E-17	9.78E-23	4.58E-23	1.89E-23	4.78E-20	1.04E-20	2.36E-20
Zn(SO4)4-----	1.60E-30	4.49E-23	1.89E-28	8.87E-29	3.67E-29	9.18E-26	2.01E-26	4.55E-26
ZnDTPA---	4.84E-09	5.97E-05	3.44E-08	5.09E-08	6.82E-08	1.49E-05	5.03E-05	5.06E-05
ZnHDTPA--	5.16E-09	6.22E-05	4.48E-07	3.27E-07	1.63E-07	9.61E-05	5.47E-05	6.04E-05
Total Zn (mol/l)	1.00E-08	1.22E-04	4.82E-07	3.78E-07	2.31E-07	1.11E-04	1.05E-04	1.11E-04

Spezies/Behandlung	Versuchsbeginn		Versuchsende					
	DTPA	DTPA Zn	DTPA 1	DTPA 2	DTPA 3	DTPA Zn 1	DTPA Zn 2	DTPA Zn 3
CaDTPA---	2.32E-05	1.31E-08	1.55E-06	4.48E-06	1.36E-05	1.49E-06	2.00E-05	9.87E-06
CaHDTPA--	8.02E-05	4.41E-08	6.50E-05	9.32E-05	1.05E-04	3.11E-05	7.02E-05	3.81E-05
ZnDTPA---	4.84E-09	5.97E-05	3.44E-08	5.09E-08	6.82E-08	1.49E-05	5.03E-05	5.06E-05
ZnHDTPA--	5.16E-09	6.22E-05	4.48E-07	3.27E-07	1.63E-07	9.61E-05	5.47E-05	6.04E-05
DTPA----	2.79E-14	1.17E-17	1.65E-15	5.29E-15	1.73E-14	1.45E-15	2.30E-14	1.00E-14
HDTPA----	5.20E-09	2.12E-12	3.75E-09	5.94E-09	7.23E-09	1.63E-09	4.37E-09	2.09E-09
H2DTPA---	8.23E-06	3.28E-09	7.24E-05	5.66E-05	2.56E-05	1.55E-05	7.04E-06	3.69E-06
H3DTPA--	4.20E-07	1.64E-10	4.51E-05	1.74E-05	2.93E-06	4.78E-06	3.67E-07	2.11E-07
H4DTPA-	3.80E-10	1.45E-13	4.98E-07	9.51E-08	5.93E-09	2.61E-08	3.38E-10	2.14E-10
H5DTPA	4.63E-14	1.72E-17	7.40E-10	6.98E-11	1.62E-12	1.92E-11	4.20E-14	2.92E-14
H6DTPA+	1.51E-18	5.50E-22	2.95E-13	1.38E-14	1.19E-16	3.78E-15	1.40E-18	1.07E-18
H7DTPA++	4.20E-24	1.49E-27	9.99E-18	2.30E-19	7.37E-22	6.32E-20	3.97E-24	3.32E-24
MgDTPA---	4.98E-07	2.19E-10	2.99E-08	9.38E-08	3.03E-07	2.68E-08	4.13E-07	1.84E-07
MgHDTPA--	9.44E-06	4.06E-09	6.92E-06	1.07E-05	1.29E-05	3.06E-06	7.99E-06	3.90E-06
FeDTPA---	9.93E-06	9.94E-06	9.26E-06	9.62E-06	9.86E-06	9.62E-06	9.93E-06	9.93E-06
FeHDTPA--	6.51E-08	6.37E-08	7.41E-07	3.80E-07	1.45E-07	3.80E-07	6.64E-08	7.29E-08
Fe(OH)DTPA---	8.12E-10	8.31E-10	6.20E-11	1.30E-10	3.59E-10	1.30E-10	7.95E-10	7.24E-10
Total DTPA (mol/l)	1.32E-04	1.32E-04	2.02E-04	1.93E-04	1.71E-04	1.77E-04	2.21E-04	1.77E-04

Anhang D3: Resultate der Nährlösungsspezifizierung (EDDS)

Spezies/Behandlung	Versuchsbeginn		Versuchsende					
	EDDS	EDDS Zn	EDDS 1	EDDS 2	EDDS 3	EDDS Zn 1	EDDS Zn 2	EDDS Zn 3
Zn++	1.17E-13	3.99E-07	4.63E-11	2.95E-12	6.14E-12	2.70E-08	5.46E-09	5.09E-09
ZnOH+	9.43E-17	3.30E-10	3.21E-15	1.22E-15	1.33E-15	3.70E-12	3.85E-12	2.21E-12
Zn(OH)2	1.07E-18	3.85E-12	3.13E-18	7.13E-18	4.08E-18	7.14E-15	3.81E-14	1.35E-14
Zn(OH)3-	3.41E-24	1.26E-17	8.58E-25	1.17E-23	3.51E-24	3.87E-21	1.06E-19	2.31E-20
Zn(OH)4--	6.09E-31	2.32E-24	1.32E-32	1.08E-30	1.69E-31	1.18E-28	1.66E-26	2.22E-27
Zn2OH+++	1.39E-29	1.65E-16	1.86E-25	4.51E-27	1.03E-26	1.25E-19	2.63E-20	1.41E-20
ZnNO3+	3.66E-16	1.25E-09	1.45E-13	9.21E-15	1.92E-14	8.45E-11	1.71E-11	1.59E-11
Zn(NO3)2	1.02E-19	3.46E-13	4.02E-17	2.56E-18	5.32E-18	2.35E-14	4.74E-15	4.42E-15
ZnSO4	3.51E-15	1.19E-08	1.38E-12	8.82E-14	1.84E-13	8.08E-10	1.63E-10	1.52E-10
Zn(SO4)2--	4.13E-18	1.40E-11	1.63E-15	1.04E-16	2.16E-16	9.51E-13	1.92E-13	1.79E-13
Zn(SO4)3----	4.39E-23	1.49E-16	1.73E-20	1.10E-21	2.30E-21	1.01E-17	2.04E-18	1.90E-18
Zn(SO4)4-----	8.40E-29	2.85E-22	3.30E-26	2.11E-27	4.39E-27	1.93E-23	3.91E-24	3.64E-24
ZnEDDS--	9.91E-09	1.21E-04	4.80E-08	8.85E-08	5.52E-08	7.08E-05	1.05E-04	8.59E-05
ZnHEDDS-	8.79E-11	1.04E-06	4.95E-09	1.53E-09	1.81E-09	3.69E-06	1.06E-06	1.42E-06
ZnH3EDDS+	7.70E-17	8.58E-13	5.85E-13	5.04E-15	2.18E-14	1.12E-10	1.22E-12	4.27E-12
Zn(OH)EDDS---	1.77E-14	2.21E-10	7.36E-15	8.12E-14	2.65E-14	2.15E-11	1.64E-10	8.24E-11
Total Zn (mol/l)	1.00E-08	1.22E-04	5.30E-08	9.00E-08	5.70E-08	7.45E-05	1.06E-04	8.73E-05

Spezies/Behandlung	Versuchsbeginn		Versuchsende					
	EDDS	EDDS Zn	EDDS 1	EDDS 2	EDDS 3	EDDS Zn 1	EDDS Zn 2	EDDS Zn 3
CaEDDS--	3.27E-08	1.17E-10	4.02E-10	1.16E-08	3.48E-09	1.02E-09	7.44E-09	6.54E-09
CaHEDDS-	4.20E-07	1.46E-09	5.99E-08	2.89E-07	1.65E-07	7.64E-08	1.09E-07	1.56E-07
ZnEDDS--	9.91E-09	1.21E-04	4.80E-08	8.85E-08	5.52E-08	7.08E-05	1.05E-04	8.59E-05
ZnHEDDS-	8.79E-11	1.04E-06	4.95E-09	1.53E-09	1.81E-09	3.69E-06	1.06E-06	1.42E-06
ZnH3EDDS+	7.70E-17	8.58E-13	5.85E-13	5.04E-15	2.18E-14	1.12E-10	1.22E-12	4.27E-12
Zn(OH)EDDS---	1.77E-14	2.21E-10	7.36E-15	8.12E-14	2.65E-14	2.15E-11	1.64E-10	8.24E-11
EDDS----	9.51E-11	3.40E-13	1.17E-12	3.37E-11	1.01E-11	2.94E-12	2.16E-11	1.90E-11
HEDDS---	4.99E-06	1.73E-08	7.11E-07	3.44E-06	1.97E-06	9.08E-07	1.30E-06	1.85E-06
H2EDDS--	1.14E-04	3.85E-07	1.89E-04	1.53E-04	1.66E-04	1.22E-04	3.39E-05	7.85E-05
H3EDDS-	1.50E-06	4.91E-09	2.88E-05	3.89E-06	8.09E-06	9.40E-06	5.08E-07	1.91E-06
H4EDDS	2.15E-09	6.84E-12	4.80E-07	1.09E-08	4.30E-08	7.93E-08	8.32E-10	5.10E-09
H5EDDS+	4.65E-14	1.44E-16	1.21E-10	4.57E-13	3.45E-12	1.01E-11	2.06E-14	2.05E-13
H6EDDS++	3.40E-18	1.02E-20	1.03E-13	6.49E-17	9.35E-16	4.34E-15	1.72E-18	2.79E-17
MgEDDS--	4.44E-07	1.59E-09	5.46E-09	1.58E-07	4.73E-08	1.38E-08	1.01E-07	8.88E-08
MgHEDDS-	5.31E-07	1.85E-09	7.59E-08	3.67E-07	2.10E-07	9.70E-08	1.38E-07	1.97E-07
FeEDDS-	9.93E-06	9.93E-06	9.99E-06	9.97E-06	9.98E-06	9.99E-06	9.94E-06	9.96E-06
Fe(OH)EDDS--	6.60E-08	6.79E-08	5.71E-09	3.41E-08	1.79E-08	1.13E-08	5.78E-08	3.56E-08
Fe(OH)2EDDS---	1.07E-12	1.14E-12	7.99E-15	2.85E-13	7.85E-14	3.12E-14	8.21E-13	3.12E-13
Total EDDS (mol/l)	1.32E-04	1.32E-04	2.29E-04	1.71E-04	1.87E-04	2.17E-04	1.52E-04	1.80E-04

Anhang D4: Resultate der Nährlösungsspeziierung (EDTA und NTA)

Spezies/Behandlung	EDTA	EDTA Zn
Zn ⁺⁺	2.83E-14	2.41E-07
ZnOH ⁺	2.39E-17	2.03E-10
Zn(OH) ₂	2.85E-19	2.42E-12
Zn(OH) ₃ ⁻	9.52E-25	8.10E-18
Zn(OH) ₄ ⁻⁻	1.79E-31	1.52E-24
Zn ₂ OH ⁺⁺⁺	8.48E-31	6.13E-17
ZnNO ₃ ⁺	8.85E-17	7.52E-10
Zn(NO ₃) ₂	2.46E-20	2.09E-13
ZnSO ₄	8.58E-16	7.20E-09
Zn(SO ₄) ₂ ⁻⁻	1.03E-18	8.48E-12
Zn(SO ₄) ₃ ⁻⁻⁻⁻	1.11E-23	9.01E-17
Zn(SO ₄) ₄ ⁻⁻⁻⁻⁻	2.15E-29	1.72E-22
ZnEDTA ⁻⁻	9.98E-09	1.22E-04
ZnHEDTA ⁻	2.12E-11	2.58E-07
Zn(OH)EDTA ⁻⁻⁻	8.54E-15	1.04E-10
Total Zn	1.00E-08	1.22E-04

Spezies/Behandlung	NTA	NTA Zn
Zn ⁺⁺	4.17E-12	2.34E-06
ZnOH ⁺	3.52E-15	1.97E-09
Zn(OH) ₂	4.19E-17	2.35E-11
Zn(OH) ₃ ⁻	1.40E-22	7.85E-17
Zn(OH) ₄ ⁻⁻	2.63E-29	1.47E-23
Zn ₂ OH ⁺⁺⁺	1.84E-26	5.77E-15
ZnNO ₃ ⁺	1.30E-14	7.29E-09
Zn(NO ₃) ₂	3.62E-18	2.03E-12
ZnSO ₄	1.26E-13	6.98E-08
Zn(SO ₄) ₂ ⁻⁻	1.49E-16	8.22E-11
Zn(SO ₄) ₃ ⁻⁻⁻⁻	1.59E-21	8.73E-16
Zn(SO ₄) ₄ ⁻⁻⁻⁻⁻	3.07E-27	1.67E-21
Zn(NTA) ₂ ⁻⁻⁻⁻	1.64E-14	4.19E-12
ZnNTA ⁻	9.99E-09	1.20E-04
Zn(OH)NTA ⁻⁻	3.92E-12	4.69E-08
Total Zn	1.00E-08	1.22E-04

Spezies/Behandlung	EDTA	EDTA Zn
CaEDTA ⁻⁻	1.20E-04	2.46E-07
CaHEDTA ⁻	4.04E-07	8.28E-10
FeEDTA ⁻	9.77E-06	9.77E-06
FeHEDTA	2.92E-10	2.92E-10
FeOHEDTA ⁻⁻	6.81E-09	6.81E-09
Fe(OH) ₂ EDTA ⁻⁻⁻	2.27E-07	2.27E-07
KEDTA ⁻⁻⁻	6.93E-15	9.92E-18
MgEDTA ⁻⁻	1.37E-06	1.97E-09
MgHEDTA ⁻	4.32E-08	6.24E-11
NaEDTA ⁻⁻⁻	8.75E-19	1.25E-21
ZnEDTA ⁻⁻	9.98E-09	1.22E-04
ZnHEDTA ⁻	2.12E-11	2.58E-07
Zn(OH)EDTA ⁻⁻⁻	8.54E-15	1.04E-10
EDTA ⁻⁻⁻⁻	4.35E-13	6.22E-16
HEDTA ⁻⁻⁻	5.09E-09	7.29E-12
H ₂ EDTA ⁻⁻	5.56E-09	7.95E-12
H ₃ EDTA ⁻	2.15E-12	3.07E-15
H ₄ EDTA	2.03E-16	2.90E-19
Total EDTA	1.32E-04	1.32E-04

Spezies/Behandlung	NTA	NTA Zn
CaNTA ⁻	5.54E-05	1.37E-06
Ca(NTA) ₂ ⁻⁻⁻⁻	2.29E-11	1.21E-14
FeNTA	5.85E-06	9.42E-06
FeNTA ₂ ⁻⁻⁻	4.15E-06	1.43E-07
MgNTA ⁻	3.66E-06	7.96E-08
NaNTA ⁻⁻	3.05E-15	6.52E-17
ZnNTA ⁻	9.99E-09	1.20E-04
Zn(NTA) ₂ ⁻⁻⁻⁻	1.64E-14	4.19E-12
Zn(OH)NTA ⁻⁻	3.92E-12	4.69E-08
NTA ⁻⁻⁻	5.63E-09	1.20E-10
HNTA ⁻⁻	5.88E-05	1.26E-06
H ₂ NTA ⁻	3.21E-08	6.85E-10
H ₃ NTA	2.35E-12	5.03E-14
H ₄ NTA ⁺	3.21E-17	6.85E-19
Total NTA	1.28E-04	1.32E-04

Anhang E: Daten zu den einzelnen Abbildungen im Text

Die folgenden Werte sind aus den Rohdaten des Anhangs A - D berechnet. Sie bilden die Grundlagen für die Abbildungen im Text.

Zu Abbildung 8 und Abbildung 9: Vergleich des totalen Trockengewichts [g] mit und ohne Zink

Behandlung	Ø TS Wurzel (-)Zn	Ø TS Wurzel (+)Zn	SF Wurzel (-)Zn	SF Wurzel (+)Zn
Kontrolle	0.805	0.399	0.2500	0.1384
EDTA	0.542	0.630	0.0475	0.1756
EDDS	0.597	0.593	0.1563	0.1915
DTPA	0.573	0.759	0.0856	0.1378
NTA	0.725	0.884	0.2730	0.0830

Behandlung	Ø TS Spross (-)Zn	Ø TS Spross (+)Zn	SF Spross (-)Zn	SF Spross (+)Zn
Kontrolle	1.898	1.670	0.5789	0.5035
EDTA	1.634	1.566	0.2344	0.4738
EDDS	1.559	1.431	0.2484	0.4184
DTPA	1.668	1.513	0.3227	0.3605
NTA	1.812	2.172	0.5837	0.1986

Zu Abbildung 10 und Abbildung 11: Totale Zinkkonzentration abzüglich Zinkkonzentration der Kontrollpflanze (µmol/kg TS)

Behandlung	Zinkgehalt Wurzeln	SF Wurzel	Zinkgehalt Spross	SF Spross
Kontrolle	100872.14	33446.47	17920.85	5526.49
EDTA	10258.52	4569.28	2310.67	749.81
EDDS	33841.27	10492.12	10486.19	3174.59
DTPA	11788.24	3396.23	2360.13	705.12
NTA	19799.44	6723.22	4495.24	1362.70

Zu Abbildung 12: Freies Zink in der Nährlösung vs. Zink im Spross. Alle Komplexbildner, Kontrollpflanze und EDDSZn von Tandy.

Behandlung	freie Zinkkonzentration Nährlösung [µmol/l]	Zinkkonzentration Spross [µmol/kg TS]	SF Zinkkonzentration Spross
EDTA Zn	0.2408	2'806.7398	480.1999
EDDS Zn	0.3990	10'982.2594	1'227.2880
DTPA Zn	0.0628	2'856.1979	279.0961
NTA Zn	2.3400	4'991.3115	565.3612
K Zn	118.0000	18'416.9212	2'437.4437
EDDS Zn (Tandy)	0.0004	458.4162	49.7333

Zu Abbildung 13 und Abbildung 14: Gehalt der Komplexbildner in Wurzel und Spross

Wurzel	μmol/kg TS (ohne Zn)	μmol/kg TS (mit Zn)	SF ohne Zn	SF mit Zn
EDDS	2932.49	1722.95	748.49	702.00
DTPA	1718.65	2863.34	187.38	1307.05

Spross	μmol/kg TS (ohne Zn)	μmol/kg TS (mit Zn)	SF ohne Zn	SF mit Zn
EDDS	147.27	435.55	50.99	196.97
DTPA	76.19	160.74	21.55	113.10

Zu Abbildung 15 und Abbildung 16: Zinkgehalt vs. Komplexbildnergehalt in Wurzel und Spross

Behandlung	μmol Komplexbildner/ kgTS Wurzel	μmol Zink/ kg TS Wurzel	SF KB Wurzel	SF Zn Wurzel
EDDS Zn	1'722.95	33'881.90	702.00	4'770.61
DTPA Zn	2'863.34	12'335.72	1'307.05	275.84

Behandlung	μmol Komplexbildner/ kgTS Spross	μmol Zink/ kg TS Spross	SE KB Spross	SE Zn Spross
EDDS Zn	435.55	10'622.61	196.97	1'227.29
DTPA Zn	160.74	2'856.20	113.10	279.10

Zu Abbildung 17 bis Abbildung 20: Konzentration Komplexbildner vs. Zinkkonzentration in den einzelnen Behandlungen (Wurzel und Spross)

Behandlung	μmol EDDS/ kg TS Wurzel	Zinkkonzentration Wurzel [μmol/kg]	μmol EDDS/ kg TS Spross	Zinkkonzentration Spross [μmol/kg]
EDDS Zn 1	1444.57	29360.27	377.39	8217.56
EDDS Zn 2	670.38	28786.81	127.20	12432.11
EDDS Zn 3	3053.90	43376.74	802.06	10808.89

Behandlung	μM DTPA/ kg TS Wurzel	Zinkkonzentration Wurzel [μmol/kg]	μM DTPA/ kg TS Spross	Zinkkonzentration Spross [μmol/kg]
DTPA Zn 1	1'436.91	11'515.21	2.64	1'862.68
DTPA Zn 2	1'679.40	11'509.59	99.69	2'389.54
DTPA Zn 3	5'473.69	12'339.92	379.89	2'828.15

Zu Abbildung 35 und Abbildung 36: Konzentration des freien Zinks in der Nährlösung bei Versuchsbeginn vs. Zinkkonzentration in der Pflanze

Behandlung	freies Zink in der Nährlösung [μmol/l]	Zinkkonzentration Wurzel [μmol/kg TS]	SF Wurzel	Zinkkonzentration Spross [μmol/kg TS]	SF Spross
EDTA Zn	0.03	10806.00	4372.86	2806.74	480.20
EDDS Zn	0.40	34388.75	4770.61	10982.26	1227.29
DTPA Zn	0.06	12335.72	275.84	2856.20	279.10
NTA Zn	2.34	24480.92	4423.15	4991.31	565.36